N. STAMATIN

MICROBIOLOGIE VETERINARĂ

VOL. II.

EDITURA AGRO-SILVICĂ DE STAT

N. STAMATIN

Laureat al Premiului de Stat
Profesor de microbiologie la Facultatea de medicină veterinară
Directorul Secției de microbiologie a Institutului de patologie și igienă animală

MICROBIOLOGIE VETERINARĂ

VOLUMUL II

BACTERIOLOGIE SPECIALĂ

CLASIFICAREA BACTERIILOR

În vederea sistematizării bacteriilor, s-au făcut încercări numeroase, dar ele nu au reuşit încă să ne dea o clasificare unanim acceptată. Acest fapt nu trebuie să ne mire, ştiut fiind că, în general, problemele de sistematică sînt foarte complexe şi această complexitate este mai accentuată încă în lumea microorganismelor, unde criteriile morfologice nu pot servi singure ca mijloc de diferenţiere între specii, genuri, familii etc. Unor asemenea dificultăţi se datoreşte, probabil, şi faptul că chiar limitele clasei *Bacteria* sau *Schizomycetes* nu sînt încă bine definite. Astfel, actinomicetele şi mixomicetele sînt încadrate de bacteriologi printre bacterii, iar de micologi printre ciuperci; spirochetele, la fel, sînt considerate bacterii de bacteriologi, protozoare de unii zoologi şi parazitologi etc.

În domeniul nomenclaturii există însă cele mai multe confuzii şi acest fenomen este desigur cel mai grav, el producînd cele mai însemnate greutăţi practicii bacteriologice şi progresului bacteriologiei. Într-adevăr, aceeaşi specie o putem găsi într-un determinator sub un nume, în altul sub alt nume.

Aceste lipsuri le considerăm că sînt legate de faza actuală de dezvoltare a microbiologiei şi că ele vor dispărea pe măsură ce cunoştinţele noastre despre bacterii se vor îmbogăţi, ceea ce nu se va putea desigur realiza decît în viitor, adică atunci cînd vom avea cunoştinţe mai multe despre vieţuitoarele acestei lumi enorm de variate, cu specii extrem de numeroase, din care multe sînt încă necunoscute. Socotind însă că o clasificare, chiar provizorie, este absolut necesară şi că ea trebuie să preceadă descrierea speciilor bacteriene importante pentru medicină, şi neputînd adapta în totalitate nici una din clasificările existente, dăm la pagina 6, o schemă mult simplificată, care încadrează bacteriile patogene pentru animale şi om. În alcătuirea acestei scheme am ţinut seamă de clasificările anterioare şi care sînt mai răspîndite (Lehmann şi Neumann, 1827, Bergey, 1948, Krasilnikov, 1949). Am conservat numele de genuri care au o mare circulaţie în literatura de specialitate ca *Salmonella, Brucella, Pasteurella* etc., precum şi numele de genuri care prezintă importanţă istorică, ca *Bacterium, Bacillus, Spirochaeta* etc. Prin simplitatea sa, sperăm că schema va uşura munca de diagnostic în laboratoarele de bacteriologie veterinară şi umană.

Schema clasificării bacteriilor patogene pentru animale și om

Clasa bacteriilor sau schizomicetelor	*I.* Grupa bacteriilor de formă rotundă, sferică sau grupa cocilor	*a)* Grupate cîte două; Gram negative	*Neisseria*
		b) Grupate neregulat; Gram pozitive	*Micrococcus* sau *Staphylococcus* *Sarcina* *Gaffkya*
		c) Grupate cîte două sau în lanțuri; Gram pozitive	*Diplococcus* *Streptococcus*
	II. Grupa bacteriilor de formă alungită, în bastonaș drept, sau grupa bacililor	*a)* Nesporulate; Gram negative	*Escherichia* *Klebsiella* *Aerobacter* *Proteus* *Salmonella* *Shygella* *Pasteurella* *Brucella* *Bacterium* *Pseudomonas* *Haemophylus*
		b) Nesporulate; Gram pozitive	*Erysipelothrix* *Listerella* *Lactobacillus* *Corynebacterium* *Mycobacterium*
		c) Sporulate; Gram pozitive (fam. Bacillaceae)	*Bacillus* (specii aerobe) *Clostridium* (specii anaerobe)
	III. Grupa bacteriilor de formă alungită, încurbată sau grupa vibrionilor	Nesporulate; Gram negative	*Vibrio*
	IV. Grupa bacteriilor de formă alungită, filamentoasă, regulat ondulată sau grupa spirochetelor	Nesporulate	*Spirochaeta* *Treponema* *Leptospira*

SCURTĂ PRIVIRE ISTORICĂ ASUPRA CLASIFICĂRII BACTERIILOR

Prima clasificare a fost făcută de Müller în 1773 *(Vermium terrestrium et fluviatilium)* și 1786 *(Animalcula infusoria fluviatilia et marina)* și cuprinde un număr redus de specii grupate în două genuri *(Vibrio* și *Monas)*. O a doua e aceea a lui Ehrenberg, 1838 *(Die Infusionstierchen als volkommene Organismen)* care deja în 1828 introdusese în clasificare genul *Bacterium*. In 1872 și 1875, Cohn *(Untersuchungen über Bakterien I,* în *„Beiträge z. Biol. d. Pflanzen*, 1872, 1, p. 146 și II, în aceeași revistă, în 1875, I. p. 141), propune o nouă clasificare, foloseşte unele noi nume de genuri din care unul, genul *Bacillus* s-a păstrat în toate clasificările următoare şi creează numele de clasă *Bacteria,* din care s-a format numele „bacteriologia". Au urmat apoi numeroase clasificări (Zopf, Migula, Pribram, Enderlein, etc.) din care cele mai importante şi care au lăsat urme sînt următoarele:

Clasificarea lui Lehmann şi Neumann, 1897 *(Atlas und Grundriss der Bakteriologie,* München, 1896) întregită şi dezvoltată în 1927 *(Bakteriologische Diagnostik,* München, 1927).

Clasificarea lui Buchanan *(J. of. Bact.,* 1916, 1, p. 591, 1917, 2, p. 155, 1918, 3, p. 27).

Clasificarea lui Bergey, *„Manual of Determinative Bacteriology".* Această clasificare se găseşte sub o ultimă formă în ediţia VI a acestui manual care a apărut în 1948 şi ea dezvoltă în general concepţiile sistematicei lui Buchanan.

Clasificarea lui Krasilnikov, *„Opredeliteli bakterii i aktinomiţetov",* Moscova, Leningrad, 1949.

Mai e de amintit clasificarea lui Prévot adoptată, în special, de unii autori de limbă franceză *(Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobes.* Paris. *Monographie de L'Institut Pasteur,* 1948).

GRUPA BACTERIILOR ROTUNDE (FAM. *COCCACEAE*)

SUBGRUPA COCILOR GRAM NEGATIVI ŞI GRUPAŢI CÎTE DOI

Genul *Neisseria* Trevisan, 1885

Din această grupă vom descrie, sumar două specii patogene exclusiv pentru om, și anume: *N. gonorrhoeae* și *N. intracellularis.* În afară de acestea, s-au mai descris și alte specii care se găsesc în cavitatea bucală și pe căile respiratorii la om și animale, dar care nu produc stări morbide caracteristice.

Neisseria gonorrhoeae Trevisan, 1885

Numele comun: *gonococul*

Germenul a fost descoperit de Neisser, în 1879, (*Zbl. f. med. Wissensch.* 1879. 17, p. 497) și descris de Trevisan, în 1885.

Morfologie. În cultură, se prezintă ca un germen rotund, măsurînd 0,6—1 microni. Celulele pot fi izolate sau grupate cîte două şi, în acest din urmă caz, cei doi coci îşi prezintă unul altuia o faţă plată sau uşor excavată, fiecare celulă avînd astfel aspectul unei boabe de cafea (aspect reniform). În puroiul gonococic germenii sînt, în general, situaţi in citoplasma polinuclearelor, grupaţi cîte doi, aspectul fiecărui germen fiind net reniform.

Se colorează cu albastru de metilen.

Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se cultivă numai pe medii cu proteine native, sînge, lichid ascitic uman etc. şi în momentul izolării numai într-o atmosferă cu o tensiune mai ridicată de CO_2 (10%). Coloniile apar după o incubaţie de 2—4 zile şi sînt mici, transparente, de culoare albă-cenuşie. S-au descris două tipuri de colonii, I şi II. Aerob facultativ. Temperatura optimă 37°C. Nu creşte la temperaturi mai mici de 25—30°C.

Rezistenţa. Gonococul este un germen foarte fragil. Se distruge în scurt timp pe mediile de cultură, în 2—3 zile la temperatura camerei şi în 6—8 zile la 37°C. Nu rezistă decît cîteva ore la uscăciune. Foarte sensibil faţă de factorii fizici şi chimici.

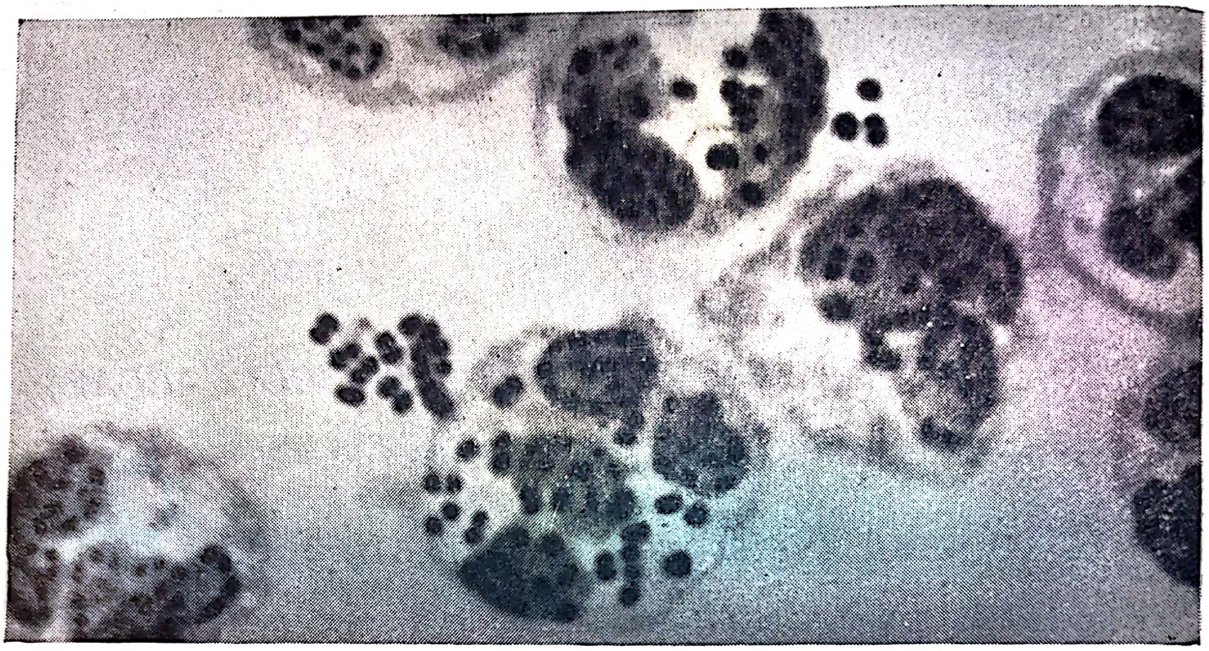


Fig. 1 — Frotiu din puroi gonococic uretral (din Jordan-Burrows, 1950)
Gonococii sînt intra și extracelulari

Proprietăți biochimice. Dintre substanțele hidrocarbonate nu atacă decît glucoza cu producție de acid lactic. Nu produce indol, nu reduce nitrații în nitriți. Produce catalază.

Patogenitate. Gonococul produce gonoreia (blenoragia) la om.

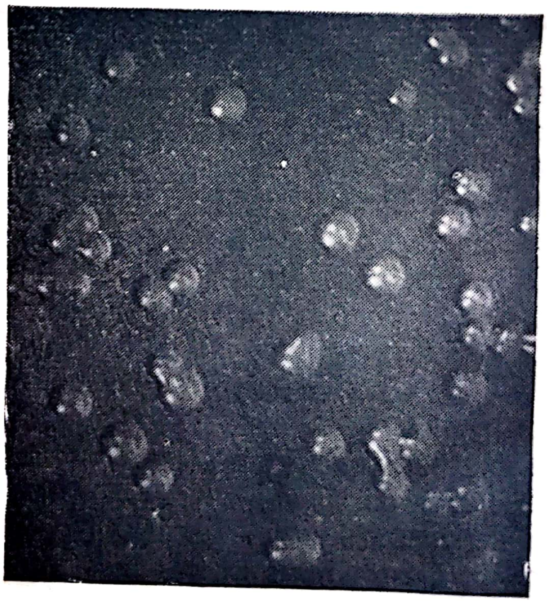


Fig. 2 — Colonii de gonococ pe agar cu sînge; × 5
(din Jordan-Burrows, 1950)

Infecția, la bărbați, debutează printr-o uretrită acută care, de cele mai multe ori se transformă într-o boală cronică. La femei, germenul se fixează în întregul aparat genital putînd afecta ovarul și peritoneul. Germenul poate trece din organele genitale prin sînge în alte țesuturi, localizîndu-se în special pe seroasele articulare, producînd artrite; se semnalează de asemenea endocardite și meningite gonococice. La copii, îndată după naștere se pot întîlni conjunctivite blenoragice, iar la fetițe infecții genitale. Infecțiile acute se transformă de multe ori în cronice și persoanele respective rămînînd mult timp purtătoare de germeni. Contagiul, cu excepția nou-născuților, se transmite numai pe cale sexuală.

Gonococul este nepatogen pentru animale. În condiții experimentale, germenii suspendați în mucină sau gălbenuş de ou provoacă o septicemie mortală la şoarecii inoculaţi pe cale intraperitoneală. Depuşi pe mucoasa conjunctivală, ei pot produce la unii iepuri o infecţie cronică. Gonococul este sensibil la sulfamide şi antibiotice.

Neisseria intracellularis Holland, 1920

Numele comun : *meningococul*

Germenul a fost izolat în cultură pură, pentru prima oară de Weichselbaum, în 1887.

Morfologie. Meningococul are forma rotundă asemănîndu-se morfologic foarte mult cu gonococul. Măsoară 0,6—1,8 microni. În frotiuri germenii pot fi izolaţi sau grupaţi cîte doi sau cîte patru. În lichidul cerebrospinal al bolnavilor se găseşte, de regulă , în citoplasma polinuclearelor.

Gram negativ şi imobil. Prezintă fenomenul de gonflare în prezenţa serului imun specific, deşi în jurul germenului nu se poate pune în evidenţă prin metode tinctoriale o capsulă.

Medii şi caractere de cultură. Se cultivă pe medii cu lichide organice. Tulpinile de laborator se dezvoltă şi pe medii obişnuite, mai ales dacă ele sînt glucozate. Temperatura optimă este de 37°C. Nu creşte la temperaturi mai mici de 22°C şi mai mari de 42°C. Coloniile pe mediile solide sînt, în general, mici, transparente, uşor lucitoare. Se dezvoltă pe agar cu sînge, producînd colonii mici, bombate, netede, de culoare gri-albăstruie, nu produce pe acest mediu hemoliză şi nici efect viridans.

Rezistenţa. Germenul este foarte fragil şi e distrus repede prin căldură şi antiseptice. De asemenea, la temperatura de 0°C culturile se sterilizează în cîteva ore.

Proprietăţi biochimice. Meningococul fermentează glucoza şi maltoza, deosebindu-se de gonococ prin fermentarea acestui din urmă dizaharid. Este lipsit de proprietăţi proteolitice. Pune în libertate o autolizină extrem de activă şi care lizează prompt celulele bacteriene.

Autolizina se distruge printr-o încălzire la 65°C şi suspensiile astfel încălzite nu se lizează.

Structură antigenică. Serologic şi chimic s-au putut pune în evidenţă în celulele bacteriene trei substanţe antigenice diferite şi anume : a) un polizaharid (substanţă c) comun meningococilor şi gonococilor ; b) o proteină (substanţă γ) prezentă la toţi menigococii şi toxică pentru iepure ; c) un polizaharid cu specificitate de tip. Prezenţa acestui din urmă antigen a permis împărţirea meningococilor în mai multe grupe sau tipuri notate cu cifre romane de la I la IV.

PATOGENITATE

Infecţia experimentală. Meningococul este puţin patogen pentru animalele de experienţă. În doze foarte mari el omoară totuşi şoarecele alb şi iepurele ; în cazul cînd inocularea se face pe cale intravenoasă sau intraperitoneală. Inoculările intracerebrale la şoarece, iepure sau maimuţă reproduc în mare parte infecţia produsă de germen, spontan la om.

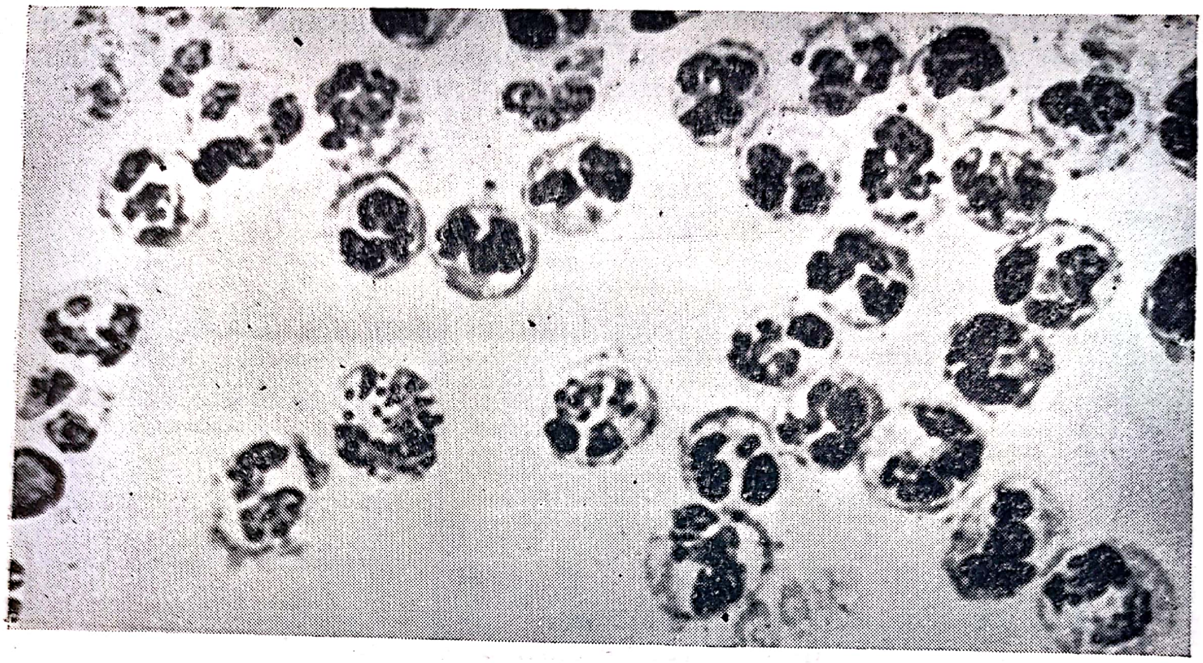


Fig. 3 — Aspectul lichidului cefalorahidian în meningita cerebrospinală; × 1 050 (din Jordan-Burrows, 1950)
Se observă polinucleare, unele cu germeni fagocitaţi în citoplasmă

Infecţia naturală. În condiţii naturale, meningococul nu este patogen decît pentru om, la care produce meningită cerebrospinală. Germenul se poate localiza însă şi în alte ţesuturi, dînd şi alte forme de boală. Astfel, s-au descris şi există septicemii, artrite, uretrite şi rinite meningococice.

Germenul îşi are habitatul obişnuit în nasofarinxul uman şi numărul purtătorilor e destul de mare, ceea ce explică, de altfel pe de o parte, relativa rezistenţă a omului la infecţie iar, pe de altă parte, frecvenţa mai mare a bolii la tineri ca la adulţi şi caracterul, intr-o mare măsură condiţionat al infecţiei. Germenul, purtat în nasofarinx, poate uneori produce doar o uşoară rinită, care trece neobservată. În unele cazuri, şi în special la persoanele cu stări de depresiune fiziologică (oboseală), el poate trece din această regiune fie în sînge, fie ajunge pe căi încă neprecizate (spaţiile perineurale ale nervilor olfactivi) în creier şi lichidul cefalorahidian. Se admite însă că, în general dispersiunea germenilor din focarul local în organism se face pe cale hematogenă şi că chiar în sistemul nervos ei sînt vehiculaţi prin sînge. Ajunşi în sînge ei pot produce o septicemie care evoluează uneori dramatic, manifestîndu-se prin febră ridicată, dar intermitentă, hemoragii pe piele şi pe mucoase (purpura fulminans) şi moartea

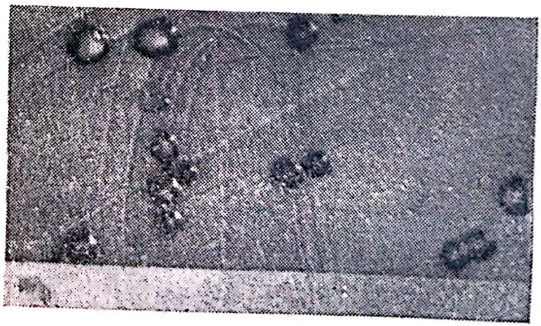


Fig. 4 — Colonii de meningococ pe agar cu sînge; × 5 (din Jordan-Burrows, 1950)

survine în 3—5 zile; alteori septicemia îmbracă o formă tifoidă sau reumatismală. In formele septicemice, reacţiile meningeale par a fi totdeauna prezente, deşi uneori sînt foarte discrete. Lichidul obţinut prin puncţia lombară are însă totdeauna caracter purulent şi germenii pot fi izolaţi prin însămînţări pe medii potrivite, deşi nu pot fi găsiţi totdeauna în frotiuri, în aceste cazuri.

Localizarea meningeală şi cerebrală a germenului este cea mai frecventă şi ea produce meningită cerebrospinală, boală bine definită, clinic, epidemiologic şi anatomopatologic. Ea poate evolua acut sau cronic. Procentul de mortalitate era, înainte de folosirea sulfamidelor şi antibioticelor, de peste 50%.

Diagnosticul de laborator se sprijină pe cercetarea germenului în nasofarinx şi în special în lichidul cefalorahidian. De obicei germenii sînt numeroşi şi pot fi puşi în evidenţă în frotiuri directe; ei se găsesc în număr mare în citoplasma polinuclearelor.

Tratament. Infecţiile meningococice se tratează cu succes prin sulfamide şi în special antibiotice — penicilina. Un ser imun a putut fi preparat şi activitatea sa curativă este însemnată în cazul inoculărilor intrarahidiene.

SUBGRUPA COCILOR GRAM POZITIVI, GRUPAŢI NEREGULAT

In această grupă sînt cuprinse trei genuri şi anume *Staphylococcus*, *Sarcina* şi *Gaffkya*. Din fiecare gen se va studia cîte o specie, şi anume: *Staphilococcus pyogenes*, *Sarcina ventriculi* şi *Gaffyka tetragena*.

Genul *Staphylococcus* Rosenbach, 1884

Sinonim: *Micrococcus* Cohn, 1872

Staphylococcus pyogenes Andrewes şi Gordon, 1907

Germenul a fost găsit de Billroth (1874) în colecţiile purulente umane şi cultivat, pentru prima oară, de Pasteur (1880), dintr-o osteomielită tibiană.

Rosenbach (1884) descrie şi el germenii patogeni rotunzi şi foloseşte primul termenul de stafilococ. Koch (1884) distinge două tipuri de stafilococi, după felul pigmentului produs — tipul *aureus* şi tipul *albus*. Mai tîrziu s-a descoperit şi un al treilea tip — *citreus* — care produce pigment galben-citrin.

Cercetîndu-se patogenitatea diverselor tulpini de stafilococ, s-a constatat că unele tulpini sînt patogene, iar altele lipsite de patogenitate. Primele constituie grupa piococilor (specia *Staphylococcus pyogenes*), cele din urmă grupa saprococilor (*St. epidermidis* sau *St. saprophyticus*). S-au determinat apoi criteriile de diferenţiere dintre piococi şi saprococi. In cadrul piococilor, Stamatin, Tacu şi Marica (1949) identifică două tipuri, şi anume: *St. pyogenes* var. *ovis* şi *St. pyogenes* var. *hominis*.

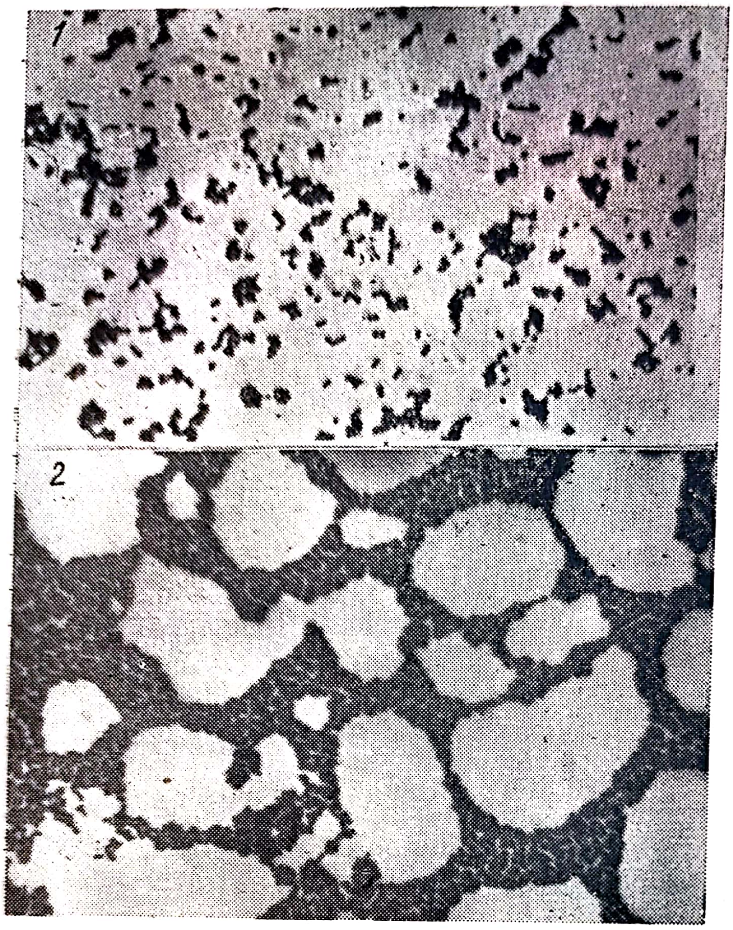


Fig. 5 — Stafilococi

1 — frotiu din cultură în bulion; 2 — frotiu din cultură pe agar. Colorație: Gram

Caractere morfologice. Stafilococii, în culturi sau în materialul patologic, au o formă sferică. Ei pot fi izolați, grupați cîte doi sau constituie grămezi neregulate. Lanțuri scurte de 4—6 elemente se pot întîlni în culturile în bulion. În frotiurile făcute în special din culturi de pe medii solide, germenii constituie grămezi caracteristice, care amintesc ciorchinele de strugure de unde provine de altfel și numele de stafilococ.

În frotiurile din material patologic sau din mediu lichid, germenii sînt izolați, grupați cîte doi sau cîte patru, în tetradă.

Diametrul celulei variază între 0,6 și 1 micron.

Stafilococii sînt imobili, nu se incapsulează, nu sporulează.

Cu privire la capsulă, Champ Lyons (1938) afirmă că stafilococii din culturi tinere au o capsulă care se colorează printr-o tehnică specială și care este prezentă și la stafilococii găsiți în sînge, în formele septicemice. Autorul afirmă că stafilococii din culturile vechi sînt necapsulați și că inoculați la animale dau un ser aglutinant numai pentru culturile vechi, necapsulate. Germenii din culturi tinere, capsulați, produc aglutinine active atît pentru cocii capsulați, cît și pentru cei lipsiți de capsulă.

Se colorează cu toate culorile bazice de anilină.

Sînt Gram pozitivi. Nu se decolorează decît cu greutate prin metoda Gram.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe medii obișnuite — bulion, geloză. Temperatura optimă 36—38°C ; se dezvoltă însă la temperaturi variind de la 10 la 43°C și chiar 48°C. Optimul de pH este 6,5 dar poate crește și în medii mult acide — pînă la pH=4,5 — sau alcaline — pînă la pH=9,8.

Este aerob facultativ. Se dezvoltă, de regulă, în aerobioză, pe suprafața agarului. Stafilococul se poate dispensa de prezența oxigenului liber și se multiplică în vid sau într-o atmosferă de hidrogen. Crește și într-o atmosferă de oxigen pur, dar, în aceste condiții, își pierde repede patogenitatea. Anaerobioza, dimpotrivă, întreține și chiar poate exagera funcțiunile de patogenitate. Secreția toxică este mult favorizată într-o atmosferă care conține o cantitate importantă de bioxid de carbon.

Stafilococul se poate cultiva pe mediile cele mai simple. El crește în decocție de fîn, în urină, în medii care conțin azot sub formă de săruri minerale sau de aminoacizi. Se poate cultiva de asemenea și pe medii sintetice; iată un asemenea mediu:

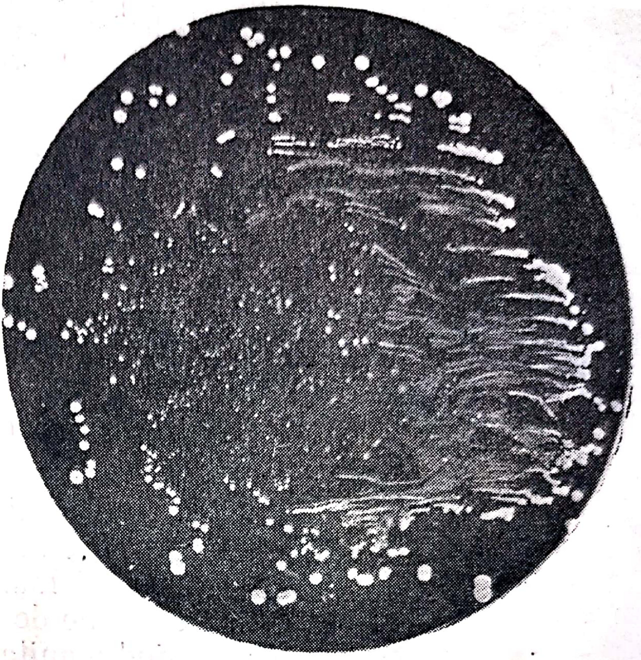


Fig. 6 — Stafilococ

Cultură pe agar în placă Petri

sulfat de magneziu	0,1 g
fosfat de potasiu (PO_4K_3)	0,1 g
ClNa	0,1 g
creatină	0,3 g
apă	100 ml

În apa peptonată dă o cultură abundentă.

În medii lichide produce o tulburare abundentă, unele tulpini constituind, chiar în 24 de ore, la suprafață, o membrană fină și un guleraș subțire, precum și un ușor depozit care se mărește pe măsură ce cultura se învechește. 1 ml de cultură, în bulion de 24 de ore, conține, în medie, 1 miliard de germeni vii (numărători în plăci). Mediile lichide agitate, în perioada incubației, dau culturi mult mai abundente ca cele lăsate în repaus. După Fink și Jennison (1950) depozitul cultural este de șase ori mai greu în culturi agitate, decît în cele normale.

Pe suprafața agarului, stafilococii, însămînțați abundent, produc un strat de cultură în care coloniile nu se pot individualiza. Coloniile izolate, obținute prin metodele obișnuite, sînt rotunde, ușor bombate cu marginile și suprafața netedă. Dimensiunile coloniilor variază în raport cu numărul lor pe unitate de suprafață; cu cît sînt mai dese, cu atît sînt mai mici și cu cît sînt mai rare, cu atît sînt mai mari. Diametrul lor poate atinge 4—5 mm.

Pe suprafața cartofului, stafilococul se înmulțește, producînd o cultură abundentă și, pentru tulpinile pigmentogene, bine pigmentată.

Pentru izolarea stafilococilor din produse patologice — materii fecale,

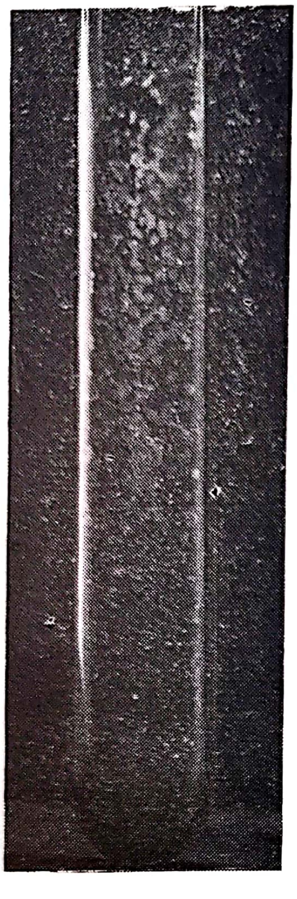


Fig. 7 — Stafilococ

Cultură pe agar înclinat

fecale, plăgi deschise, lapte — care conțin mai multe specii bacteriene, se poate folosi mediul lui Chapman (1945), care are următoarea compoziție:

extract de carne	8 g
peptonă	9 g
clorură de sodiu	75—100 g
manita	10—100 g
fibre de agar	15—30 g
roșu de fenol	0,025—0,25 g
apă distilată	1 000 ml

În momentul întrebuințării, mediul se repartizează în plăci Petri. Însămînțarea se face în suprafață. Coloniile de stafilococi patogeni, dezvoltate pe acest mediu, sînt mari și înconjurate de o zonă gălbuie, datorită fermentării manitei și virajului indicatorului. În schimb, coloniile de stafilococi nepatogeni sînt mici și, nefermentînd manita, ele nu modifică culoarea roz inițială a mediului. Mediul, din cauza concentrației mari de clorură de sodiu, este în general, inhibitor pentru alți germeni și, în special, pentru Gram negativi.

Tot pentru izolarea stafilococilor din materiale patologice, cu floră abundentă și variată, Sonnenschein (1930) recomandă agarul cu 10% alcool etilic. Stafilococii se dezvoltă bine în 24 de ore, în timp ce alți germeni sînt, de regulă, inhibați. Pe agarul cu cristal violet (1/300 000) stafilococii patogeni formează colonii înconjurate de o zonă colorată în violet sau portocaliu (Chapman și col. 1937, Klastrup, 1955). Gamova-Kaciukova (1951), Topciu și colaboratorii (1935) folosesc, ca mediu de izolare și de identificare a tulpinilor patogene de stafilococi, agarul cu 6—7,5% ClNa, la care adaugă globule roșii de oaie. Tulpinile patogene se dezvoltă pe acest mediu și produc hemoliză, în timp ce cele nepatogene sînt, în general, nehemolitice.

Producția de pigment. Secreția de pigmenți este prezentă la unele tulpini și este condiționată de o serie de factori externi. Astfel, apariția pigmentului, la o tulpină avînd această însușire, este condiționată de mediul de cultură, de lumină, oxigen etc. Pigmentul apare pe mediile solide, în special pe cartof și agar, în aerobioză și la lumina difuză. Dimpotrivă, el nu se produce pe mediile lichide, în anaerobioză și la întuneric. Lumina solară directă inhibă însă această secreție. Temperatura optimă, la care se secretă pigmentul, este de 20—22°C.

Pigmenții stafilococilor fac parte din grupa lipocromilor; ei sînt insolubili în apă, dar se dizolvă în eter, alcool, cloroform, benzen; dau, cu acidul sulfuric reacția lipocianinei. Se extrag din stafilococi uscați și apoi tratați cu acid acetic la cald și pe urmă cu alcool și eter.

Felul pigmentului secretat de diverse tulpini variază, distingîndu-se însă trei tipuri principale, și anume: auriu, alb și citrin. Folosindu-se drept criteriu tipul pigmentului secretat, s-au creat trei specii de stafilococi: *St. aureus, St. albus* și *St. citreus*, nume care mai persistă încă în multe determinatoare. S-a afirmat și se mai afirmă că există o relație între felul pigmentului secretat și patogenitate și că tulpinile pigmentate în auriu sînt patogene, în timp ce cele care eliberează un pigment alb sau galben ca lămiia (citrin) sînt nepatogene sau slab patogene (Topley și Wilson). Dacă acest lucru este în mare parte adevărat pentru staficococii izolați de la om, pentru cei izolați de la animale el nu corespunde realității. Într-adevăr, stafilococii izolați din mamitele gangrenoase de la oaie nu secretă pigment auriu, ei formînd pe agar colonii albe-gri și, cu toate acestea, sînt foarte patogeni, atît pentru o serie de specii animale, cît și pentru om. Nu există deci nici o relație între felul pigmentului secretat și patogenitate, de aceea socotim că termenul de *St. pyogenes* este mai potrivit pentru a desemna stafilococii patogeni, decît cel de *St. aureus*. Caracterul de patogenitate este drept că nu are o fixitate absolută și el poate fi pierdut de o tulpină, dar este totuși mai fix decît pigmentogeneza și poate fi pus în evidență prin multiple metode obiective de cercetare.

Proprietăți biochimice. Toți stafilococii se dezvoltă în gelatină, dar, după unii autori, numai unii din ei, în general cei patogeni, o lichefiază. Procesul de topire este vizibil după o incubație de 3—4 zile la 20—22°C; el începe în partea superioară a coloanei de cultură, unde se constituie o cupă și apoi treptat se întinde, lichefiind, cu timpul, tot mediul. Activitatea gelatinolitică este mai frecvent întîlnită la tulpinile care secretă pigment auriu decît la cele cu pigment alb. În general, după datele din literatură, 68—100% din tulpinile de tipul *St. aureus* lichefiază gelatina și numai 47—67% din cele de tip *St. albus*. Saprofiții pot și ei lichefia gelatina. Proprietatea gelatinolitică nu poate servi pentru a distinge piococii de saprococi, deoarece ea poate fi prezentă și la unii și la alții. Prezența substanțelor hidrocarbonate inhibă activitatea gelatinolitică.

Stafilococii nu lichefiază serul coagulat; în jurul coloniei formate pe acest mediu, unele tulpini pot produce totuși o ușoară depresiune, ceea ce denotă o oarecare acțiune proteolitică. Acest aspect se observă și pe mediile cu ou.

Stafilococii patogeni, ca și cei nepatogeni, coagulează adeseori laptele. Stamatin și Răducănescu (1955) au constatat că stafilococii ovini coagulează laptele în proporție de 92,85%, cei umani în proporție de 47,30%, iar cei nepatogeni în proporție de 58,33%. Stafilococii de tip ovin sînt deci mai activi decît cei umani sau ca stafilococii nepatogeni, față de lapte. Coagularea laptelui pare a fi datorită atît acidului format prin scindarea lactozei, cît și fermentului lab secretat de germeni.

Stafilococii patogeni ar fermenta, după unii autori, constant, manita și lactoza. Manita nu este fermentată, de regulă, de saprococi, și proba fermentării acestui polialcool ar putea servi, după Julianelle (1937), la diferențierea piococilor de saprococi. Procentul de eroare ar fi, după autor, de 5%. Există, într-adevăr, tulpini de piococi care nu fermentează manita, precum și tulpini de stafilococi nepatogeni care o fermentează. Stafilococii patogeni sau nepatogeni mai pot fermenta glucoza, maltoza, glicerina, zaharoza, galactoza și levuloza și sînt inactivi față de ramnoză, dulcită, arabinoză, salicină, glicogen și amidon. Stamatin și Răducănescu (1955), examinînd capacitatea fermentativă la 47 de tulpini (37 coagulau plasma citratată de iepure și 10 nu o coagulau), au obținut următoarele rezultate: toate tulpinile au fermentat glucoza, levuloza, zaharoza, maltoza și galactoza; 45 au fermentat dextrina, 43 lactoza, 26 arabinoza, 9 salicina, 3 sorbita, 1 rafinoza și 1 dulcita. Citirea finală s-a făcut după 3 zile, la 37°C.

Proprietățile fermentative pot varia anumite condiții de cultură, putînd duce la apariția unor noi funcții fermentative, în timp ce altele duc la dispariția celor existente. Unii autori au observat o exagerare a puterii fermentative prin cultivarea tulpinilor, timp de 1 an, pe medii cu organe. În medii cu extracte alcoolice din organe (ficat, rinichi, splină de bou), tulpinile patogene pierd, dimpotrivă, această însușire, o dată cu capacitatea de a fermenta manita, de a lichefia gelatina, de a coagula plasma și a secreta hemolizine.

Stafilococii nu produc indol.

Dezintegrează peptonele cu producția de aminoacizi și amoniac. Se afirmă că există o relație directă între această activitate și puterea patogenă a tulpinilor.

Nu produc hidrogen sulfurat.

Reduc nitrații în nitriți.

Structură antigenică. Examenul serologic al stafilococilor a fost făcut, în special, cu scopul de a se găsi un mijloc de a deosebi piococii de saprococi.

Unii cercetători (Kolle și Otto, 1902, Prőscher, 1903 și alții) afirmă că această diferențiere se poate face prin seroaglutinare, fiindcă toți piococii conțin antigeni comuni, dar diferiți de ai saprococilor, astfel că un ser preparat cu unul din ei va aglutina pe toți piococii, dar nu va aglutina nici un saprococ. Julianelle (1922) afirmă că toți piococii fac parte dintr-o singură grupă serologică, A, în timp ce saprofiții constituie trei grupe: B, C și D. Grupele B și C sînt distincte serologic, iar grupa D o constituie saprococii neaglutinabili prin ser. Christie și Keogh (1940) au examinat, prin seroaglutinare pe lamă, tot în vederea diferențierii piococilor de saprococi, 392 de tulpini, din care 269 coagulau plasma citratată și erau deci patogeni (piococi). Din aceste din urmă tulpini, 257 erau aglutinate de un amestec de trei seruri preparate cu tulpini coagulazo-pozitive, nouă aglutinau spontan și trei erau neaglutinabile. Din 123 de tulpini coagulazo-negative, adică tulpini de saprococi, 120 nu au fost aglutinate de același amestec de trei seruri, două aglutinau spontan și una aglutina slab în prezența serului. Reiese și din aceste date diferențele nete dintre piococi și saprococi. Julianelle (1937), Peragallo (1937), Hagemann (1937), nefiind satisfăcuți de rezultatele obținute prin seroaglutinare, au aplicat, pentru diferențierea piococilor de saprococi, seroprecipitarea, folosind ca antigen un extract polizaharidic care conține 4% azot. Autorii afirmă că metoda le-a dat rezultate bune, permițîndu-le să diferențieze stafilococii patogeni de cei lipsiți de patogenitate. Pentru primii, ei creează o grupă serologică numită A, iar pentru saprococi o a doua grupă, numită B. Rezultă din aceste cercetări că stafilococii patogeni conţin un polizaharid specific şi diferit deci de cel conţinut de nepatogeni. Polizaharizii stafilococici sînt lipsiţi de antigenitate, dar dau reacţii de precipitare la diluţii mari, cu serul precipitant respectiv (preparat cu culturi integrale). Stafilococii, patogeni sau saprofiţi, conţin, pe lîngă haptena polizaharidică, o proteină care se comportă ca un antigen complet. Cowan (1938) ajunge la rezultate puţin diferite de acelea ale autorilor citaţi mai sus. El constată, într-adevăr, că majoritatea tulpinilor hemolitice şi deci, în general, patogene aparţin aceleiaşi grupe serologice, însă întîlneşte şi tulpini patogene care nu aparţineau acestei grupe. În ceea ce priveşte tulpinile nehemolitice şi deci apatogene, autorul constată că acestea prezintă variaţii şi mai mari în ceea ce priveşte structura lor antigenetică, ele constituind încă şi mai multe grupe serologice.

Cowan, în vederea tipizării tulpinilor, prin reacţia de seroprecipitare, prepară serul precipitant pe iepuri, constatînd cu această ocazie, importante diferenţe individuale în ceea ce priveşte producţia precipitinelor; unele animale produceau un ser bogat în precipitine, altele, dimpotrivă în aceleaşi condiţii, un ser sărac sau foarte sărac. Antigenul din suspensiile bacteriene era extras după metoda folosită de Lancefield pentru a obţine antigenul polizaharidic din tulpinile de streptococ. Se poate folosi pentru reacţie, ca antigen, şi lichidul de centrifugare a culturilor tinere în bulion. Reacţia de seroprecipitare se face astfel: se pun în tubul de reacţie 0,25 ml de ser precipitant diluat 1/10 şi 0,25 ml de antigen diluat.

Popa (1955) face unele observaţii privind complexitatea structurii antigenice a piococilor; folosind seroaglutinarea încrucişată între şapte tulpini de piococi şi serurile respective, constată că fiecare tulpină conţine antigeni comuni cu toate celelalte tulpini, dar conţine şi un antigen propriu, astfel că aglutininele dintr-un ser nu pot fi adsorbite total decît cu tulpina folosită la prepararea serului. Tot Popa face constatarea că aglutininele dintr-un ser nu pot fi adsorbite decît prin cantităţi enorme de antigen.

Folosind seruri adsorbite şi metoda aglutinării pe lamă, o serie de cercetători au arătat că acest procedeu poate fi folosit la tipizarea tulpinilor de stafilococi. Yonemura (1936), lucrînd după acest procedeu ajunge la concluzia că stafilococii patogeni pot fi împărţiţi în 11 grupe, iar Cowan (1939), în 3 grupe (I, II, III). Existenţa acestor din urmă 3 grupe a fost confirmată şi de alţi cercetători (Mercier şi col., 1950).

Stafilococii patogeni sînt aglutinaţi de plasma umană (Berger, 1943, Cadness-Graves şi col., 1943), iar cei nepatogeni nu sînt aglutinaţi. Capacitatea aglutinantă ar fi datorită fracţiei de fibrinogen solubilă în CO_2. Aglutinarea prin plasmă umană (metoda rapidă pe lamă) poate servi la diferenţierea piococilor de saprococi. Rezultatele sînt aproximative. Sîrbu şi Asanache (1956) au examinat capacitatea aglutinantă a diverselor plasme animale şi umane faţă de stafilococi, constatînd că numai plasma umană permite, într-o oarecare măsură, diferenţierea piococilor de saprococi.

Shringley şi Maculo (1949) observă că lichidul alantoamniotic al embrionului de găină aglutinează unii stafilococi. Principiul aglutinant din lichid trece prin membranele de colodiu, nu se solubilizează în solvenţii organici (alcool, eter etc.), precipită în prezenţa sulfatului de amoniu, se distruge la 46°C, precum şi sub influenţa razelor ultraviolete.

Rezistenţă. Stafilococii, deşi nu formează spori, se conservă timp îndelungat în culturi sau în material uscat. Ei sînt transplantabili, din medii care nu conţin substanţe hidrocarbonate şi care deci nu se acidifică, după cîteva luni de conservare la temperatura camerei. La rece se pot conserva 1 an sau chiar mai mult. Ei au putut fi izolaţi din puroi uscat şi după 100 de zile. Se conservă, de asemenea, un timp îndelungat pe fire de mătase îmbibate cu cultură sau material patologic şi apoi uscate. În carne şi alte alimente, germenii rezistă mai mult de 3 luni la temperatura de — 18°C.

Temperatura de 60°C (căldură umedă) omoară stafilococii într-o oră. Sensibili faţă de diversele antiseptice, formol, fenol, sublimat etc., ca şi faţă de antibiotice. Penicilina, de exemplu, inhibă, în general, dezvoltarea tulpinilor de stafilococi într-o concentraţie de 0,02—0,2 U.I. pe 1 ml de mediu. Se pot izola însă din diversele procese patologice şi tulpini penicilinorezistente care nu sînt inhibate nici chiar de 5 000—10 000 U.I. pe ml. O dată cu întrebuinţarea penicilinei, pe o scară largă, procentul tulpinilor penicilinorezistente izolate din infecţiile umane a crescut pînă la 85% (Forfar, 1955). Tulpinile penicilinosensibile se deosebesc printr-o serie de proprietăţi de cele penicilinorezistente. Mesrobeanu şi Mitrică (1951) constată, de exemplu, că stafilococii penicilinosensibili conţin mai mult N-total şi N-acidosolubil şi acizi nucleici ca cei penicilinorezistenţi. Aceştia din urmă, în raport cu cei dintîi, conţin însă mai mult azot aminic, amoniacal şi purinic. De asemenea Bolle (1955), studiind comparativ două tulpini, una rezistentă şi alta sensibilă, constată că prima este mai pigmentată, se dezvoltă mai bine în anaerobioză, are schimburile respiratorii mai intense, acumulează mai mult acid izonucleic decît cea sensibilă. În plus, ea nu conţine acid glutamic, care este prezent însă la tulpina sensibilă.

În apă distilată sau ser fiziologic, stafilococii se conservă cîteva luni. Demn de remarcat este faptul că apa de mare exercită o însemnată activitate bactericidă faţă de stafilococi. Principiul activ antistafilococic din apa de mare se păstrează mult timp la 4°C. El este filtrabil. Se distruge la 112—115°C. Apa Oceanului Atlantic este mai activă ca a Mediteranei (Richou şi col., 1955).

Ecologie. Habitatul obişnuit al piococilor îl constituie pielea şi mucoasele oamenilor şi animalelor. Tulpinile izolate de pe aceste învelişuri exterioare sînt, în general, lipsite de patogenitate. Totuşi, examinînd 100 de persoane sănătoase, s-a reuşit să se izoleze stafilococi patogeni din fosele nazale de la 43 dintre ele, de pe mîini de la 12 şi, în acelaşi timp, de pe mîini şi din nas, de la 12. Kourilsky şi Mercier (1940) găsesc în mucusul nazal, provenind de la persoane care nu prezentau vreun proces purulent, stafilococi într-o proporţie de 86%, 18 din cele 20 de tulpini astfel izolate aparţineau tipului *aureus*.

Stafilococii pot fi izolaţi şi din aerul camerelor locuite de multe persoane. În apa care a servit pentru baia unei persoane se găsesc, de regulă, un număr impresionant de stafilococi pe unitatea de volum — 1 000—100 000 pe 1 ml. Stafilococii hemolitici s-au izolat de la oi şi miei, din jurul orificiilor naturale, cum şi de pe piele.

Sensibilitatea la bacteriofag. S-au putut izola, din diverse produse patologice, precum şi din tulpini lisogene, bacteriofagi activi faţă de tulpinile de stafilococi. Folosindu-se activitatea electivă a unor tulpini de bacteriofag față de diversele tulpini de stafilococi, Williams, Timmins (1938), precum și Fisk (1942) au încercat o tipizare a stafilococilor pe baza sensibilității lor față de activitatea litică a diverselor tulpini de bacteriofag. Wilson și Atkinson (1945), Wahl și colaboratorii (1950) au pus la punct tehnica tipizării fagice a stafilococilor, încercînd chiar și o clasificare a lor pe această bază. Astfel, Wilson, și colaboratorii găsesc printre tulpinile cercetate 21 de tipuri, iar Wahl și colaboratorii cinci grupe, constatînd însă și unii și alții că există tulpini neclasabile. Se pare că există unele relații între sensibilitatea la un anumit bacteriofag și structura antigenică a celulei bacteriene. Tulpinile coagulaso-negative și deci nepatogene nu sînt sensibile față de fagii care atacă tulpinile coagulaso-pozitive și deci patogene. Tipizarea prin fagi trebuie să se facă după o anumită tehnică, căci numai astfel se obțin rezultate valabile (Wahl și col. 1950).

Greutatea tipizării tulpinilor de stafilococ, prin bacteriofag ține de faptul că numai unele tulpini sînt sensibile la un singur bacteriofag. Majoritatea sînt sensibile la doi sau mai mulți fagi, și se capătă astfel tipuri de reacție foarte numeroase.

Prepararea unor suspensii de bacteriofagi foarte puternici ajută la eliminarea reacțiilor îndoielnice.

Se poate admite, cu cele știute pînă azi că fagii stafilococici pot fi cuprinși în trei grupe :

Grupa I sau 52 ;
Grupa II sau 3 A ;
Grupa III sau 6—47 (Williams și col., 1953).

Aceste grupe fagice corespund celor trei tipuri antigenice de stafilococ, descrise de Cowan. Cu toată multiplicitatea reacțiilor observate în tipizare, este totuși adesea posibil să se determine într-o izbucnire epidemică dacă două sau mai multe tulpini de stafilococ sînt sau nu identice.

O greutate în tipizare provine probabil și din faptul că se întîlnesc tulpini lizogene care pot fi deodată purtătoare de unul pînă la cinci tipuri deosebite de fag.

Fagii stafilococici au putut să fie clasificați pe baza structurii lor antigenice, cu ajutorul serurilor antibacteriofag.

In acest mod ei au fost clasați în cel puțin șase grupe antigenice. Unele din aceste grupe sînt în strînsă legătură cu tulpinile de origine animală (Rouritree, 1949).

PATOGENITATEA ȘI ELEMENTELE EI

Problema diferențierii stafilococilor patogeni de cei saprofiți. Stafilococii patogeni se multiplică în țesuturile vii, sînt deci virulenți, dar ei secretă, în același timp, o serie de substanțe, din care unele îndeplinesc funcțiuni agresinice, deoarece asigură apărarea germenilor față de mijloacele de apărare a organismului, iar altele produc tulburările anatomice și fiziologice caracteristice infecției. S-au identificat, la piococi, următorii factori de agresiune cu funcţii de patogenitate: hemolizine, leucocidine, necrodermotoxine, toxine cu efect letal, stafilochinaza, enterotoxina, hialuronidaza şi neurotoxine. Aceşti factori lipsesc în general, la stafilococii saprofiţi.

Hemolizina stafilococică a fost pusă în evidenţă de Krauss (1900). Ea este constant prezentă la piococi şi, de regulă, absentă la saprococi. S-au izolat totuşi tulpini apatogene, care hemolizau globulele roşii.

Hemolizinele sînt secretate atît in vivo, în organism cît şi in vitro, pe medii de cultură. Compoziţia mediului şi condiţiile de cultivare influenţează această producţie. Bulionul obişnuit, căruia i se adaugă ser de om sau de iepure sau hemoglobină de om sau iepure, înlesneşte producerea hemolizinelor şi, dimpotrivă, serul de bou, oaie şi chiar cel de cal, împiedică formarea lor. Acţiunea inhibitoare a acestor din urmă seruri este datorită atît prezenţei aglutininelor normale (titrul acestora poate depăşi 1/2 000), cît şi a antihemolizinelor normale (Gross, 1931). Serurile care favorizează apariţia hemolizinelor nu conţin antihemolizine, iar titrul aglutininelor normale, conţinute de aceste seruri, este scăzut, pînă la 1/500 în serul de om sau în serul de iepure.

Cultivarea stafilococilor hemolizanţi într-o atmosferă cu un conţinut important de CO_2 înlesneşte formarea hemolizinelor, ca şi a tuturor substanţelor toxice. Gladstone (1938) obţine într-un mediu sintetic, o hemolizină activă de tip alfa.

Activitatea hemolizinelor, secretate de diverse tulpini de stafilococi patogeni, nu este aceeaşi pentru globulele roşii de diferite origini. Glenny şi Stevens (1935), Smith şi Price (1938) disting, din acest punct de vedere trei categorii de stafilococi, şi anume: 1) secretori de hemolizine *alfa*, active faţă de globulele roşii de iepure; 2) secretori de hemolizine *beta*, active faţă de globulele roşii de oaie; 3) secretori de hemolizine *gama*, active faţă de globulele roşii de iepure şi foarte puţin pentru cele de oaie. Hemolizinele alfa se inactivează la 60°C, dar se pare că se reactivează printr-o încălzire la 100°C, în timp ce celelalte pierd numai parţial activitatea lor la 56—60°C. Distrugerea lor completă nu se poate face decît la 100°C. Hemolizina alfa este mai sensibilă la formol decît hemolizina beta. Toxinele stafilococice, care conţin hemolizine alfa, produc necroza pielii la iepure şi cobai şi omoară şoarecele şi iepurele. Cele de tip beta nu omoară şoarecele, omoară iepurele, dar nu produc necroze cutanate. Efectul hemolitic al toxinei de tip beta se accentuează la gheţar; activitatea hemolizinelor alfa nu este influenţată de temperaturile joase. Hemolizinele alfa şi beta se disting şi din punct de vedere antigenic. Anticorpii anti-alfa nu neutralizează beta hemolizinele şi invers (Bryce şi col., 1937).

Activitatea hemolitică a diverselor tulpini de stafilococi, faţă de globulele roşii de iepure şi oaie, nu este net separată, în sensul că nu se găsesc decît rar tulpini total inactive faţă de globulele roşii ale unei specii şi foarte active faţă de ale celeilalte specii. Filtratele tuturor tulpinilor toxice hemolizează, în doze mari (diluţii 1/10), globulele roşii ale ambelor specii. În doze mici însă filtratul unor tulpini este inactiv pentru globulele roşii ale unei specii, dar activ pentru celelalte. Stamatin, Tacu şi Marica (1949) au arătat că tulpinile izolate de la om sînt mai active pentru globulele roşii de iepure, decît pentru cele de oaie, conţin deci mai multe hemolizine alfa

Tabelul 1

Comportarea hemolizinelor stafilococice (după date din literatură)

	Hemolizine		
	alfa α	beta β	gama γ
Hemoliza globulelor roşii de iepure	++	(+)	+
Hemoliza globulelor roşii de oaie	+	+	(—)
Globule roşii de oaie (rece + cald)	0	++	0
Necroza cutanată la iepure şi cobai	++	0	0
Efect letal pentru şoareci intraperitoneal şi intravenos	+	0	0
Efect letal pentru iepure intraperitoneal şi intravenos	+	+	?

decît beta, în timp ce cele izolate din mamite de la oi sînt, dimpotrivă mai active pentru globulele roşii de oaie decît pentru cele de iepure, conţin deci mai multe hemolizine beta și mai puține alfa.

La concluzii similare ajung și Pillet și colaboratorii (1950). Tulpinile izolate de la animale se deosebesc de cele izolate de la om prin tipul de hemolizine secretate și prin absența fibrinolizinei. Autorii consideră că toate tulpinile izolate de la animale sînt de alt tip, decît cele izolate de la om, ceea ce nu pare a corespunde realității.

Tulpinile umane și ovine se comportă după Kojima și Kodama (1939), Stamatin și colaboratorii (1949), diferit pe plăci cu agar și sînge defibrinat, dar nu citratat, de oaie sau bou. Astfel, tulpinile umane, care secretă hemolizine produc, pe acest mediu, zone de decolorare totală (hemoliză şi hemodigestie) ; coloniile sînt înconjurate de o zonă clară de hemoliză completă, care se mărește la 37°C, dar nu la gheţar. Tulpinile ovine nu produc sau produc o slabă zonă de hemoliză totală ; în schimb, în jurul culturii dezvoltate, se constituie un halo de parţială decolorare ; acest halo se formează la termostat, dar şi la temperatura camerei sau gheţar. Plăcile cu sînge de oaie pot servi, într-o oarecare măsură, la distincţia celor două feluri de tulpini, fără a constitui însă un criteriu sigur de diferenţiere.

Hemoliza, după Seifert (1935), ar fi datorită cuplării toxinei cu un constituent lipoidic din globula roșie și permeabilizării consecutive a membranei.

Tulpinile hemolitice conservă lung timp această însuşire, chiar dacă sînt păstrate pe medii obișnuite — agar — și la temperatura camerei. O conservabilitate practic nelimitată se realizează însămînţînd tulpinile, prin înțepătură, în agar drept și menţinînd tuburile la rece. Trecerile se fac o dată la 2 luni.

Leucocidinele sînt toxine antileucocitare secretate de stafilococii patogeni. Ele au fost descoperite de Van de Velde (1894). Se găsesc în culturile stafilococilor patogeni, ca și în filtratele acestor culturi. În prezenţa

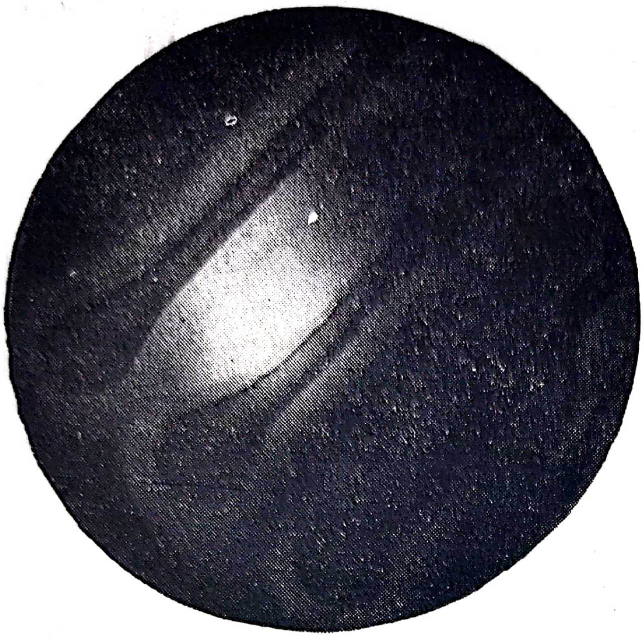


Fig. 8 — Stafilococ hemolitic
Cultură pe agar cu sînge de iepure

acestui principiu, in vivo ca şi in vitro, leucocitele îşi pierd mobilitatea, devin rotunde, granulate şi apoi volumul lor creşte pînă ce membrana cedează şi conţinutul lor se varsă în mediu. Joyer şi colaboratorii (1935) constată că inocularea la iepuri tineri, a unui filtrat bogat în leucocidine, produce leucopenie şi hiperplazia măduvii osoase. Prezenţa acestor toxine, într-un filtrat stafilococic, poate fi descoperită şi cantitatea lor măsurată prin metoda imaginată de Neisser şi Wechsberg, care se bazează pe acţiunea reductoare, faţă de albastrul de metilen, a leucocitelor normale şi pe pierderea acestei activităţi de către leucocitele a căror vitalitate sau integritate funcţională a dispărut.

Metoda. Se determină volumul minim dintr-o suspensie de leucocite care reduce o cantitate fixă dintr-o soluţie de albastru de metilen în 2 ore. la 37°C.

Se repartizează apoi în tuburi de reacţie din suspensia de leucocite dublul volumului minim determinat.

Se adaugă, în tuburile care conţin acelaşi volum de leucocite, cantităţi descrescînde din filtratul de examinat, şi anume 1; 0,1; 0,01 şi 0,001 ml.

Se completează, în fiecare tub, volumul lichidului pînă la 2 ml. Tuburile se ţin la termostat 90 de minute, în care timp toxina acţionează asupra leucocitelor.

Se adaugă apoi, în fiecare tub, cîte două picături dintr-o soluţie slabă de albastru de metilen.

Amestecul din fiecare tub se acoperă cu un strat subţire de ulei de parafină.

Tuburile se pun la termostat şi citirea se face după 2 ore.

Leucocitele au fost dezintegrate de leucocidine în tuburile în care nu s-a produs decolorarea soluţiei de albastru de metilen. Metoda este destul de dificilă şi nu dă totdeauna rezultate.

Necrotoxina sau *dermotoxina*. Filtratul tulpinilor patogene de stafilococ conţine o toxină care produce inflamaţia şi necroza dermului. Prezenţa acestei fracţii toxice într-un filtrat se descoperă inoculînd filtratul intradermic la iepure. Se consideră ca doză minimă necrotoxică, cantitatea care produce o necroză cu un diametru de 0,5 cm, în 24—48 de ore. Efectul necrozant, al toxinei poate fi atenuat prin amestecul filtratului cu glicerină Smith (1938), Rigdon (1936) observă că în regiunile cutanate injectate în prealabil, cu soluţii de clorură de sodiu, efectul necrozant al toxinei este redus. Se pare, după Gross (1932), că există o relaţie directă între capacitatea hemolitică şi dermonecrotică a unei tulpini, dar nu între puterea dermonecrotică şi viteza de coagulare a plasmei. Privind tulpinile de stafilococi din punctul de vedere al capacităţii lor hemolitice, coagulante şi dermonecrotice, Gross le împarte în trei categorii :

1. intens hemolitice şi dermonecrotice, dar cu o putere coagulantă redusă ;
2. mai puţin intens hemolitice şi dermonecrotice, dar cu o putere de coagulare mare ;
3. lipsite de însuşiri hemolitice, dermonecrotice şi coagulante (tulpinile apatogene).

Toxina cu efect letal este prezentă în secreţiile stafilococilor patogeni şi a fost pusă în evidenţă de Krauss şi Pribram (1906). Autorii au obţinut, la această dată, o toxină care omoară, pe cale intravenoasă, iepurele în 5—30 de minute. Doza activă varia de la 0,1 la 1 ml. Doza minimă mortală pentru cobai era de 0,25 ml, iar pentru şoareci de 0,05 ml.

La animalele moarte, scurt timp după injectarea toxinei se găsesc leziuni congestive în toate organele; cele care mor cîteva zile după injecţie prezintă mici focare necrotice în rinichi, pulmon şi ficat.

Stafilochinaza, plasmochinaza sau *coagulaza* a fost descoperită de Delezene în 1898 şi studiată de Loeb (1903—1904). Ea este un ferment termostabil (rezistă la 90°C şi chiar 100°C), care se găseşte numai la tulpinile patogene. A fost apropiat de trombină. Precipită cu alcool (Fisher, 1936). Prezenţa acestui ferment, aşa cum rezultă din numeroase lucrări, este cel mai sigur şi mai constant semn al patogenităţii unei tulpini.

Pentru a determina existenţa stafilochinazei într-o cultură de stafilococi, se procedează astfel : sîngele de iepure se amestecă, chiar în momentul recoltării, cu un volum egal de citrat de sodiu, soluţie 2%. Amestecul se centrifughează, apoi plasma se recoltează şi se distribuie, în tuburi mici de reacţie, cîte 0,9 ml ; se adaugă, apoi, în fiecare tub, 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore sau acelaşi volum dintr-o suspensie de cultură pe agar. Tuburile se pun la 37°C. Coagularea, pierderea fluidităţii iniţiale a lichidului, în cazul cînd cultura este patogenă, se face în scurt timp, de la 30 de minute la cîteva ore ; observaţia trebuie să dureze 24 de ore. Se pot folosi şi alte procedee pentru a pune în evidenţă prezenţa sau absenţa stafilochinazei. Unii cercetători recomandă, de exemplu, să se folosească plasma diluată 1/10 în ser fiziologic. Rezultatele pozitive se obţin şi cu plasma conservată, cu condiţia ca ea să fie păstrată la gheţar şi să nu fie infectată. Plasma inactivată prin căldură nu poate fi folosită, ea nemaifiind coagulată de stafilochinaza stafilococică (Lieb şi col. 1943).

Viteza de coagulare a plasmei variază în raport cu tulpina, cu originea plasmei şi cu doza însămînţată. Astfel, aceeaşi plasmă este coagulată mai repede de unele tulpini ca de altele. Plasma diverselor specii animale nu se comportă la fel faţă de aceeaşi tulpină. Tulpinile patogene coagulează constant plasma de iepure ; plasma de cobai, de exemplu, este, în general, insensibilă faţă de acest ferment şi numai puţine tulpini de stafilococ o pot coagula. Smith şi Hale (1944) afirmă că în plasmele sensibile există un activator al stafilochinazei, care lipseşte în cele insensibile. Plasma de cobai, care este lipsită de acest cultivator devine coagulabilă dacă i se adaugă ser de iepure, adică activatorul coagulazei. De asemenea, după Klastrup, plasma de om este un activator pentru plasma de bou. Plasma de om este coagulată de stafilococii patogeni; prezența unei infecții stafilococice nu modifică sensibilitatea plasmei subiectului respectiv față de coagulare (Sudhues, 1933).

Stamatin, Tacu și Marica (1949) au constatat, din punct de vedere al sensibilității plasmelor diverselor specii animale, unele deosebiri între tulpinile provenind din infecțiile umane, în raport cu unele tulpini izolate din diverse procese morbide de la animale, în special din mamita gangrenoasă a oilor. Astfel, tulpinile de origine umană coagulează, în cîteva ore, plasma de iepure, foarte încet pe cea de oaie și mult mai încet sau de loc, chiar după 3 zile de observație, plasma de bou. Tulpinile izolate din mamita gangrenoasă a oilor sînt dimpotrivă egal de active atît pentru plasma de iepure, cît și pentru cea de bou.

Doza de cultură adăugată unui volum dat de plasmă influențează viteza de coagulare, în sensul că aceasta se produce cu atît mai încet cu cît cantitatea însămînțată este mai mică. Cercetările făcute, în această privință, au arătat că chiar cantități reduse de germeni (1/10 000 parte dintr-o ansă de cultură) pot coagula plasma de iepure.

Stafilococii patogeni, după Woods și Parkin (1946), Taylor și colaboratorii (1948), se pot deosebi de stafilococii saprofiți și prin însămînțare pe agar cu plasma citratată de iepure. Coloniile formate de germeni patogeni se înconjoară, pe acest mediu, de o zonă opacă, care este datorită acțiunii stafilochinazei asupra plasmei din mediu; această zonă lipsește în jurul coloniilor de germeni saprofiți.

Klastrup (1954) a folosit, în același scop, un mediu solid compus din:

plasmă oxalatată de vițel	40%	
plasmă oxalatată de om	1%	(activator)
agar 2—3%	59%	

pH = 7,4 — 7,5

Mediul se însămînțează și se incubează 24 de ore la 37°C și 24 de ore la rece și apoi se citește. Reacția pozitivă se traduce prin formarea unei zone opace în jurul coloniilor. Mediul poate fi folosit pentru izolarea stafilococilor patogeni din laptele de vacă.

Coagulul format sub influența stafilochinazei, în plasma citratată de iepure, mai tîrziu se dizolvă sub acțiunea fermenților fibrinolitici secretați de stafilococi. Și din acest punct de vedere tulpinile de diverse origini se comportă, uneori, dar nu totdeauna diferit. De regulă, tulpinile umane lichefiază repede coagulul format, în timp ce cele ovine de loc sau foarte tîrziu. Lichefierea coagulului de fibrină se observă în plasma de iepure dar nu în plasma de oaie sau bou. Fibrinoliza se observă și în cazul folosirii plasmei de om. Madison (1936) observă, în această privință, că tulpinile izolate de la animale — cal, vacă, porc, cîine — nu produc niciodată fibrinoliza plasmei umane, pe care însă o pot coagula. Tulpinile umane izolate din procese superficiale produc fibrinoliza în proporție de 77%, iar cele provenind din procese profunde în proporție de 90%.

Principiul coagulant al plasmei se găsește și în filtratul culturilor de stafilococi patogeni. Tulpinile puternic hemolitice și necrozante, deci foarte virulente, secretă acest ferment după însămînțare și el se găsește în filtratul culturilor de 24 de ore, pentru a dispărea în cele mai vechi de 5 zile. Tulpinile mai puțin virulente încep a-l pune în libertate după o incubație de 3 zile și el este prezent chiar în filtratul culturilor vechi de 10—12 zile.

Fermentul coagulant intervine în procesul morbid, complicînd, prin acțiunea sa, infecțiile stafilococice. S-a arătat că inoculînd un filtrat coagulant în segmentul venei jugulare de la iepure se poate produce coagularea sîngelui. Asemenea coagulări se pot întîmpla în infecțiile stafilococice spontane și ele duc la tromboze.

Plasmochinaza intervine, de altfel, și în procesul patologic, înlesnind instalarea sa. Se comportă deci ca o agresină. S-a constatat, în acest sens. că stafilococii, în prezența unei plasme pe care o pot coagula, sînt mai rezistenți față de fagocite, ca în absența ei. Această rezistență s-ar datori, după Hale și Smith (1945), constituirii, în jurul germenului, a unui înveliș de fibrină, care ar lua naștere sub influența stafilochinazei.

Stamatin, Tacu și Marica (1949) observă că stafilococii izolați din mamita gangrenoasă a oilor coagulează plasma de bou și produc, la această specie, în condiții experimentale, abcese de dimensiuni mult mai importante ca stafilococii de origine umană, care sînt inactivi față de plasma de bou. De asemenea stafilococii izolați din mamita gangrenoasă a oilor sînt mult mai patogeni pentru oaie decît cei proveniți de la om, ceea ce pare a fi, la fel, în legătură cu capacitatea coagulantă a plasmei. Într-adevăr. stafilococii ovini coagulează mult mai repede plasma de oaie ca cei umani. Injectînd, la aceeași oaie, pe fața internă a unei coapse, stafilococi umani (1 ml de cultură în bulion), iar pe a celeilalte coapse, în aceeași doză, stafilococi ovini, autorii constată că la locul de inoculare a acestor din urmă germeni se produce un edem hemoragic care cîștigă repede țesuturile adiacente. Animalul moare în 2—3 zile de septicemie stafilococică, iar germenii izolați din sînge au caracterele tipului ovin — coagulează plasma de bou și produc hemolizine beta. De altfel, la locul de inoculare a stafilococului uman se constituie doar o mică indurație, însoțită de un eritem al pielii.

Diferențele constatate între stafilococii umani și cei ovini, cu privire la felul hemolizinelor secretate și la modul de comportare pe plasma citratată de iepure, oaie și bou, justifică crearea, în cadrul speciei *Staphylococcus pyogenes,* a celor două variante amintite mai sus. Dăm, în tabelul 2, modul de comportare a cîtorva tulpini umane și ovine față de globulele roșii de iepure și oaie și față de plasmele citratate de iepure, oaie și bou.

Se pare că stafilococii ovini sînt mult mai patogeni, pentru toate speciile și chiar și pentru om, decît cei umani. Tipul de stafilococ ovin ar avea, față de tipul de stafilococ uman, aceeași poziție pe care o are bacilul tuberculozei bovine față de bacilul uman. Primul infectează și boul, cel din urmă numai omul.

Enterotoxina. Unele tulpini de stafilococi secretă in vivo, ca și in vitro, o enterotoxină termostabilă (rezistă 90 de minute la 100°C), neurotropă și patogenă pentru om, maimuță și pisică. Tulpinile care secretă această toxină pot produce intoxicații alimentare (Barber, 1914, Dack, 1930, Lamsey și Tracey, 1930, Jordan, 1930, Gernez-Rieux și col. 1947).

Tabelul 2

Activitatea tulpinilor de stafilococi umani și ovini asupra globulelor roșii de iepure și oaie și asupra plasmei citratate de iepure, oaie și bou

Tulpina	Originea	Doza minimă de toxină care lizează globulele roșii de		Viteza de coagulare (în ore) a plasmei de		
		iepure	oaie	iepure	oaie	bou
Wood	Om	1/500	1/10	1	12	30
Staf. 3	„	1/500	1/100	1	20	Negativ
Staf. 1	„	1/500	1/10	2	18	Negativ
Staf. 18	„	1/500	1/10	3	4	Negativ
Mol.	„	1/1 000	1/100	3	18	Negativ
Amig.	„	1/2 000	1/10	1	28	48
Brașov 1	„	1/1 000	1/10	2	20	48
Brașov 2	„	1/2 000	1/10	4	24	Negativ
Brașov 3	„	1/2 000	1/10	3	24	Negativ
Rot.	„	1/2 000	1/10	9	18	48
2 809	„	1/2 000	1/500	2	18	72
Petrovici	„	1/500	1/10	2	18	72
Parvan	„	1/1 000	1/10	2	24	Negativ
Coseru	„	1/500	1/10	2	12	Negativ
Domnița	Mamită oaie	1/100	1/5 000	1	1	2
Slobozia	„ „	1/100	1/3 000	2	1	2
Luntz	„ „	1/400	1/5 000	3	1	2
Buzău	„ „	1/10	1/1 000	2	1	2
1 543	„ „	1/2 000	1/5 000	1	1	2
773	„ „	1/10	1/1 000	1	1	2
J_2	„ „	1/500	1/10 000	2	1	1
Copoiu	„ „	1/100	1/5 000	12	1	2
Pasteur	„ „	1/100	1/10 000	3	1	3

La noi în țară, Cornelson și colaboratorii (1951) au descris o intoxicație în masă (peste 400 de persoane) produsă de o smîntînă infectată prin laptele unei vaci cu mamită stafilococică. Combiescu și colaboratorii (1956), au descris două intoxicații cu stafilococi produse una în urma consumului de tobă și alta a unei creme infectate. Asemenea intoxicații au mai fost semnalate și de Topciu și colaboratorii (1953).

Intoxicațiile stafilococice se manifestă prin vărsături, diaree, colici, mai rar cefalee, și aceste simptome, spre deosebire de cele ce se întîmplă în intoxicaţiile salmonelice apar repede 2—6 ore după ingerarea produsului infectat, dar, de regulă, dispar în 24 de ore. În general, nu se înregistrează cazuri mortale.

Diagnosticul intoxicaţiilor alimentare de origine stafilococică se face prin examen bacteriologic. Germenul se izolează, de regulă, din alimentele infectante, dar nu din materiile fecale ale bolnavilor. Intoxicaţia este de tip toxic şi nu infecţios, cum este de exemplu, în gastroenteritele salmonelice. Starea morbidă se datoreşte germenilor şi toxinelor respective din alimente şi nu multiplicării germenului în tubul digestiv. Intoxicaţia nu apare decît în cazul cînd în alimente s-a produs o multiplicare enormă a stafilococilor enterotoxici. Barber a observat încă din 1914, că laptele unei vaci nu producea intoxicaţia cînd era consumat imediat după muls, dar o provoca dacă era lăsat cîteva ore la temperatura de 28—30°C. În aceste din urmă condiţii, germenul, prezent în laptele vacii, care, probabil, prezenta o mamită stafilococică, se multiplica în număr suficient de mare pentru a putea provoca iritaţia mucoasei digestive şi tulburările consecutive. Stafilococii izolaţi din alimente, pentru a putea fi încriminaţi ca agenţi ai unei intoxicaţii, trebuie să secrete enterotoxină şi trebuie deci examinaţi din acest punct de vedere. În acest scop, toxina totală, obţinută prin cultivarea stafilococului, într-o atmosferă bogată în CO_2, în agar moale sau în alt mediu convenabil (vezi mai departe mediile folosite pentru a obţine toxina stafilococică), se încălzeşte la 100°C timp de 15—30 de minute, pentru a distruge fracţiile toxice termolabile şi apoi se injectează, în doze de 1—2 ml pe 1 kg de greutate vie, la pisici tinere, cu o greutate de 400—500 g (Testul lui Dolman şi al colaboratorilor, 1936). Injecţia se face pe cale intravenoasă sau intraperitoneală. În cazul cînd filtratul conţine enterotoxină, animalul prezintă o stare de prostaţie, ptialism, vărsături, diaree. Aceste tulburări apar după 15—30 de minute şi durează cîteva ore. Animalele, de regulă, se remit. Robinton (1949), Juhász şi Takács (1956) folosesc broasca *(Rana esculenta)*, pentru a pune în evidenţă enterotoxina. În acest scop, autorii din urmă inoculează broaştele (cîte două exemplare pentru fiecare probă de toxină) în sacul limfatic dorsal ; fiecare broască este inoculată cu cîte 2 ml de toxină. Animalele sînt sacrificate după 2 ore, constatîndu-se, în cazul cînd produsul conţinea enterotoxină, însemnate mişcări antiperistaltice, care merg de la pilor spre cardia. Proba se face cu martori neinoculaţi sau inoculaţi cu produse sigur netoxice. Reacţia are un grad însemnat de specificitate, în sensul că filtratele obţinute din culturile altor specii bacteriene, cu excepţia speciilor din genul *Proteus,* nu produc asemenea modificări în motilitatea stomacală la broască.

Enzimele proteolitice secretate de stafilococii patogeni intervin în procesul infecţios, favorizîndu-l. Astfel, *hialuronidaza* sau *mezomucinaza* este o enzimă secretată de stafilococi şi care depolimerizează acidul hialuronic. Acest din urmă acid intră în compoziţia a numeroase ţesuturi, cum este colagenul ţesutului conjunctiv subcutan şi prin descompunerea sa se înlesneşte difuzarea infecţiei în ţesuturi.

Fosfatazele intervin, se pare, de asemenea în dezvoltarea procesului infecţios, ceea ce reiese din constatarea făcută de Barber şi colaboratorii (1955), Carrère şi Roux (1954), că există o relaţie între patogenitatea unei tulpini şi activitatea sa fosfatazică. Pentru a pune în evidenţă activitatea fosfatazică se recurge la medii lichide sau solide. Ca mediu lichid se foloseşe bulionul cu pH = 7,6 (ajustare strictă). În bulion se adaugă soluţie 1 % de fosfat de fenolftaleină, sterilizată prin filtrare, astfel ca să se obţină o concentraţie finală de 1/5 000. Mediul, repartizat în tuburi, se însămînţează cu tulpina de cercetat şi, după o incubaţie de 20—60 de ore, se adaugă, în fiecare tub, o picătură de NaOH n/10. Mediul se colorează, în urma acestui adaos, în roz, în cazul cînd germenul, cu ajutorul fosfatazei pe care o posedă, a eliberat fenolftaleina din complexul fosfatat. Ca mediu solid se foloseşte agarul nutritiv, la care se adaugă substanţa. După dezvoltarea germenilor însămînţaţi, suprafaţa plăcii cu agar este expusă vaporilor de amoniac. În jurul coloniilor ce conţin germeni fosfatazo-pozitivi se produce o înroşire a mediului, ca o consecinţă a eliberării fenolftaleinei din complex. Valoarea reacţiei este relativă. Carrère şi Roux (1954) socotesc totuşi că un germen este sigur patogen cînd dă o reacţie pozitivă după 60—72 de ore şi nepatogen cînd, după acelaşi interval de timp, dă o reacţie negativă. La rezultate similare ajung şi Bergner şi colaboratorii (1956) lucrînd cu un mediu propriu cu baza de glicerofosfat de sodiu.

Neurotoxine. Korseleva (1953) a observat că toxina stafilococică, injectată la şobolani albi, în doză de 5 ml pe kilocorp, produce reacţii din partea sistemului nervos, manifestate prin tulburări de coordonare motorii, exoftalmie, modificări ale unor reflexe necondiţionate complexe etc. Aceste tulburări se accentuează în cazul cînd injecţia se repetă la acelaşi animal. Ar reieşi din aceste observaţii că stafilococii pun în libertate şi o toxină neurotropă.

Infecţia experimentală. Tulpinile patogene pot produce infecţii, în condiţii experimentale, la diverse specii de animale de laborator.

Iepurele, dintre aceste animale, este cel mai sensibil. El poate fi infectat pe diverse căi. Calea intravenoasă este cea mai severă. Într-adevăr, tulpinile patogene îl omoară regulat pe această cale. Doza minimă mortală variază de la o tulpină la alta ; ea este însă ridicată chiar pentru tulpinile cele mai active, în general de la 0,1 la 1 ml de cultură în bulion de 24 ore. Moartea survine în 24—48 ore, uneori chiar după cîteva zile de la infecţie. La autopsie se constată, la animalele moarte în 24 de ore sau mai puţin, numai leziuni congestive. La animalele moarte după 48 de ore sau mai mult se găsesc abcese în rinichi şi miocard. S-au descris leziuni şi pe endocard, în articulaţii, creier, măduva osoasă (osteomielită), vezica biliară etc. În timpul vieţii animalului, stafilococii se multiplică şi se elimină prin bilă, provocînd catarul şi necroza pereţilor vezicii biliare.

Injecţia stafilococilor patogeni, în cavitatea pleurală a iepurelui, produce o reacţie locală şi moartea animalului, dacă doza a fost suficient de mare. Cavitatea peritoneală se opune multiplicării stafilococilor şi infecţiile, pe această cale, sînt, de regulă, fără rezultat, chiar dacă se folosesc doze mari de germeni foarte patogeni. Pe cale subcutană, stafilococii produc o inflamaţie locală ; un abces se constituie cînd doza injectată a fost mare, 1 ml de cultură sau mai mult.

Pe cale intradermică, doze relativ mici de cultură pot produce o reacție locală manifestă. Diverşi autori folosesc această cale pentru a determina virulența unei tulpini. Ei injectează, în acest scop, la acelaşi iepure, diverse diluții din suspensia unei culturi pe agar. Cu cît tulpina este mai virulentă, cu atît ea produce o leziune mai gravă — necroză — cu o doză mai mică de germeni. Tulpinile puțin patogene produc plăci inflamatorii fără necroză. Reacția se citeşte după 2—4 zile de la inoculare. Doza minimă activă variază de la 0,1 la 0,001 ml din suspensia unei culturi pe agar de 24 de ore, în 10 ml apă fiziologică.

Stafilococii patogeni, inoculați pe cale intramusculară la iepure, produc abcese locale, pe cale intraarticulară, artrită purulentă, pe cale intraoculară, leziuni a căror gravitate variază în raport cu doza şi gradul de patogenitate a tulpinii. Pe cale intramamară (Şoituz, 1930) se produce un abces care se videază prin fistulizare şi duce la ciroza glandei. Starea generală este trecător alterată, infecția, după autor, nefiind mortală şi producîndu-se doar o tumefacție trecătoare a glandei.

Cobaiul este puțin sensibil față de infecția stafilococică. Dozele mari de cultură, inoculate pe cale intraperitoneală, produc o infecție acută şi mortală. Pe cale subcutană cultura produce o inflamație locală, fără necroză şi abces. Besredka a găsit însă o tulpină care, inoculată pe cale subcutană, în doze de 1 ml, producea edem şi necroză locală, iar în doză de 1,5—2 ml leziune locală este urmată în 3—10 zile, de o septicemie mortală. Inoculările în glanda mamară, la cobăițe în lactație, nu alterează secreția laptelui, nu produc abces şi nu alterează starea generală a animalului. Smith și colaboratorii (1947) observă că tulpinile de stafilococi care coagulează plasma de coabai sînt mai patogene pentru acest animal decît tulpinile care sînt inactive față de plasmă.

Șoarecele este relativ rezistent. Inoculările subcutane sînt, de regulă, negative. Uneori se produce însă necroza pielii și moartea animalului. Pe cale intraperitoneală, unele tulpini omoară șoarecele în doze relativ mici — 0,01—0,04 ml din suspensia unei culturi pe agar în 5 ml de apă fiziologică. Dumas (1914) constată că stafilococul mamitei oilor este mult mai patogen ca cel izolat de la om sau de la alte specii animale decît oaie, el omorînd șoarecele chiar într-o diluție de 1/10 000 ml dintr-o cultură în bulion. Smith și colaboratorii (1947) afirmă că stafilococii în amestec cu plasma de om sau de animal, sînt mai patogeni pentru șoarece. Juhász și Takács (1956) socotesc patogene tulpinile de stafilococ care omoară șoarecele, pe cale intraperitoneală, în doză de 1 miliard de germeni (suspensia în apă fiziologică, dintr-o cultură pe agar înclinat; se spală suprafața agarului cu 2 ml de apă și se inoculează din această suspensie 1 ml).

Șobolanul alb este receptiv. Inoculările intravenoase cu doze variind de la 0,1 la 0,5 ml de cultură în bulion de 24 de ore, produc o infecție mortală, de regulă, în 7 zile, animalele prezentînd abcese multiple în rinichi. De la animalele moarte germenii se izolează din sînge şi organe.

Inoculările subcutane, la *cal, bou, cîine,* produc abcese locale.

Porumbelul este socotit refractar. Unele tulpini izolate de la oi cu mamită gangrenoasă sînt patogene şi omoară porumbelul inoculat pe cale intramusculară în 16—24 ore.

Peștii (Cyprinus alburnus), după Pavlos (1936), sînt receptivi față de infecția stafilococică.

Omul este sensibil. Inoculările produc, după relatările a numeroși cercetători, abcese locale sau chiar flegmoane. Se pot produce însă și septicemii și complicații grave, așa cum s-a constatat, în special, în cazul unor accidente de vaccinație produse de o anatoxină difterică infectată cu stafilococi sau în cazul unor accidente de laborator.

Variațiile de patogenitate. Puterea patogenă a stafilococilor poate fi, după Kourilsky și Mercier (1940), ușor mărită. Stafilococii puțin patogeni sau chiar apatogeni, izolați de pe piele sau de pe mucoasa de la om, pot fi transformați, după Kourilsky și colaboratorii (1942) în germeni cu virulență plină, prin pasagii pe organismul iepurelui. Inoculările subcutane și cele făcute, în special, direct în organele interne — ficat, splină, capsula grăsoasă a rinichiului — dau, din acest punct de vedere, cele mai bune rezultate. Exaltările cele mai importante de virulență se obțin prin inoculări în capsula grăsoasă a rinichilor. Țesutul conjunctiv, în general, favorizează mărirea virulenței. Inoculările intraperitoneale sau intrapulmonare nu modifică virulența tulpinilor, iar inocularea intravenoasă duce, dimpotrivă la o diminuare a acestei proprietăți.

Tabelul 3

Proprietățile esențiale și distinctive ale celor două tipuri de stafilococi patogeni și ale grupei de stafilococi nepatogeni

Proba folosită	Tipul de stafilococ		
	St. pyogenes var. hominis	St. pyogenes var. ovis	St. saprophyticus
Coagularea plasmei de iepure	+ în 1—3 ore	+ în 1—3 ore	—
Coagularea plasmei de bou	De regulă negativ în primele 10—12 ore	+ în 1—6 ore	—
Pigmentul secretat................	Auriu	Alb-gri	Citrin sau alb-cretaceu
Hemoliza globulelor roșii la iepure în plăci Petri cu agar	+	+	— sau +
Tipul de hemolizine secretat	α dominant	β dominant	—
Capacitatea gelatinolitică	+	+	+
Coagularea laptelui	+	++	+
Prezența fibrinolizinei	+	—	—
Fermentarea manitei	+	+	— sau +
Aglutinarea cu plasmă de om	+	+	—
Reacția de seroprecipitare cu ser preparat cu tulpini patogene	+	?	—
Reacția de seroprecipitare cu ser preparat cu tulpini saprofite	—	—	+
Capacitatea dermonecrotică	+	+	—
Patogenitatea pentru iepure pe cale intravenoasă	+	+	—
Patogenitatea pentru oaie	±	+ +	—
Patogenitatea pentru bou	—	+	—

Stafilococii virulenți, depuși pe pielea intactă sau pe mucoase, pierd în scurt timp capacitatea lor de a invada țesuturile, dar ei recapătă această însușire prin pasagii pe organismul iepurelui. Vîgodcikov (1950) constată că, în general chiar tulpinile cele mai stabile, cum sînt tulpina Wood izolată de Burnet (1929) sau tulpina O-15 izolată de autor în 1935, pierd prin conservarea lor în laborator puterea patogenă, disociindu-se constant în variante toxigene și netoxigene. Menținerea unei tulpini toxigene se face prin selecția continuă, la fiecare trecere a coloniilor care reprezintă tipul tulpinii.

IMUNITATEA ANTISTAFILOCOCICĂ

Un abces stafilococic poate fi urmat de un al doilea și acesta de un al treilea etc., ceea ce înseamnă că un prim contact cu agentul patogen și stingerea focarului creat nu duce la instalarea unei stări de imunitate. O imunitate, pe căi naturale, se instituie totuși după o serie de abcese. Ea se traduce atît prin încetarea infecției, cît și prin prezența, în umorile organismului, a antitoxinelor stafilococice. Umorile unor oameni, cît și ale unor specii animale, conțin, într-adevăr, antitoxine stafilococice. Concentrația în antitoxine crește cu vîrsta și este mai accentuată în umorile organismelor care au suferit recent de infecții stafilococice (Ramon și col., 1935).

Unele animale, cum sînt bovinele și porcinele, care prezintă o remarcabilă rezistență naturală față de infecțiile stafilococice, conțin în umorile lor cantități apreciabile de antitoxină (Descazeaux și Richou, 1935).

Apariția antitoxinelor stafilococice, în cursul infecțiilor naturale este capricioasă. La om, după unii autori, infecțiile stafilococice, cu excepția osteomielitei, nu modifică sensibil conținutul umorilor în antitoxine. Observațiile clinice par a confirma acest punct de vedere și de aceea, chiar în cursul infecțiilor stafilococice, se folosesc vaccinuri care sînt mai apte să provoace apariția anticorpilor decît stafilococii vii din focarul infecțios. Mult timp aceste vaccinuri erau constituite din suspensii de stafilococi omorîți prin căldură, dar, după ce s-a descoperit toxina și anatoxina stafilococică, acest din urmă produs a înlocuit, în cea mai mare parte, dar nu total, suspensiile de germeni morți.

Prepararea toxinei stafilococice. Pentru a obține toxină stafilococică activă este necesar, în primul rînd, o tulpină toxigenă și, în al doilea rînd, un mediu convenabil. Nu toate tulpinile patogene sînt egal de toxigene, iar tulpinile, dovedite toxigene, nu secretă toxine decît în anumite condiții de mediu. Se pot folosi, în scopul obținerii toxinei, diverse medii.

Mediul Burnet se prepară astfel: se adaugă extrasului de carne de bou peptonă Witte, 2%, glucoză 1%, sulfat de magneziu 0,03% și fibre de agar 0,7%. pH-ul mediului se ajustează în jurul cifrei 7,5. Mediul se repartizează, după prepararea și sterilizarea sa, în plăci Petri. Plăcile se însămînțează, îndată după răcire și solidificare, cu o cultură pe agar de 24 de ore, pusă în suspensie în apă fiziologică. Plăcile se incubează într-un aparat de vid, care se închide ermetic și din care se scoate, cu pompa de vid, 20% din aerul conținut. Aerul eliminat, prin pompa de vid, se înlocuiește cu bioxid de carbon. După o incubație de 36—48 de ore la 37°C, mediul tăiat în bucăți se pune, cu cultură cu tot, într-o pîlnie cu tifon și se lasă, pentru scurgerea lichidului, timp de o noapte, la ghețar. A doua zi lichidul obținut este întîi centrifugat și apoi trecut prin filtru Seitz, E.K.K., obținîndu-se un lichid clar, lipsit de orice germen și care conține, în general, cantități însemnate de toxine.

Mediul Dolman-Wilson (1938) dă de asemenea bune rezultate și el are următoarea compoziție:

Peptonă obținută prin digestia triptică a cazeinei sau peptonă-Witte	20 g
Cl Na	5 g
PO_4K_2H	1 g
PO_4KH_2	1 g
Cl_2Ca	0,1 g
SO_4Mg	0,2 g
Agar	3 g
Apă	1 000 ml

Peptona și sarea se dizolvă în 500 ml de apă distilată; se adaugă apoi celelalte substanțe afară de agar, se fierbe și se completează volumul la 1 l cu apă distilată: se ajustează pH la 7,4. Se adaugă agarul și se autoclavează. Mediul se distribuie cald în plăci Petri în strat înalt de 1 cm. După răcire se însămînțează fiecare placă cu 0,5—1 ml dintr-o cultură în bulion de 6 ore.

Mediul astfel însămînțat este incubat la 37°C, timp de 40 de ore, într-o atmosferă care conține 20—30% bioxid de carbon.

Ramon întrebuințează, pentru obținerea toxinei, un amestec de 2 părți peptonă Martin, 1 parte macerație, la rece, de carne de vițel (600 g de carne la 1 l de apă). Amestecul, ajustat la un pH=7,4 se repartizează în baloane plate (Fernbach) de 2 l capacitate, cîte 1 l de mediu în fiecare balon. Baloanele însămînțate sînt incubate 7 zile la 37°C, într-o atmosferă care conține 20% CO_2. Ramon și colaboratorii (1938) obțin secreția toxinei și într-un mediu sintetic. Duthie și Wylie (1945) constată că producțiile de hemolizine alfa și beta și de toxină letală și dermonecrotică, cresc considerabil dacă cultura este agitată regulat și continuu în timpul incubației.

Filtratele de cultură, înainte de a fi folosite la prepararea anatoxinei stafilococice, trebuie titrate, determinîndu-se activitatea lor hemolizantă, dermonecrotică și letală. Activitatea hemolitică se determină în tuburi de reacție; în acest scop, diluții descrescînde de toxină, aduse la volumul total de 2 ml, se amestecă cu cîteva picături dintr-o suspensie de globule roșii de iepure pentru hemolizinele alfa, de oaie pentru hemolizinele beta. Amestecul se ține 1 oră la 37°C și peste noapte la ghețar; apoi se face citirea. Titrul hemolizant variază de la 1/500 la 1/2 000 sau chiar mai mult. Toxinele cu un titru mai mic de 1/1 000 nu pot fi folosite la prepararea anatoxinei. Doza minimă necrotică se stabilește pe iepure după metoda indicată mai sus și ea variază de la 0,0001 la 0,000 5 ml. Doza minimă letală este pentru o toxină bună, de 0,2—0,3 ml pentru 1 kg de greutate vie de iepure.

Toxicitatea filtrului se poate determina și prin serofloculare, în raport cu un ser antitoxic de titru cunoscut. În acest scop, doze descrescînde de toxină se amestecă cu o doză fixă de antitoxină (50 U.I.); volumul de lichid, în fiecare tub, trebuie să fie același; completările de volum se fac cu ser fiziologic. Amestecul de toxină și antitoxină rămîne 30 de minute la temperatura camerei și apoi tuburile sînt puse la 45°C într-o baie. Ele se examinează, din cînd în cînd, pentru a surprinde apariţia primei floculări. Tubul în care apare întîi flocularea corespunde amestecului neutral şi deci cantitatea de toxină, din acel tub, este de 50 unităţi toxice corespunzătoare celor 50 unităţi de antitoxină. Cînd flocularea apare, în acelaşi timp, în mai multe tuburi, se determină tubul în care toxina a fost complet neutralizată, folosind drept reactiv globulele roşii, sensibile pentru toxina folosită (Ramon şi Richou, 1936).

Anatoxina. Filtratele, avînd o suficientă toxicitate, pot fi folosite la prepararea anatoxinei. În acest scop li se adaugă formol în proporţie de 0,50% şi apoi sînt puse la 37°C pentru un timp variind de la 15 la 30 de zile (Ramon, 1940).

Anatoxina injectată la iepure provoacă o imunitate antitoxică solidă (Combiescu şi col., 1942). În serurile animalelor astfel injectate apar anticorpi care floculează în prezenţa anatoxinei. Această proprietate a serurilor antitoxice a fost folosită pentru titrarea anatoxinei. O bună anatoxină trebuie să conţină cel puţin 10 unităţi floculante. Ea trebuie să fie total lipsită de nocivitate; în doze de 3—4 ml, ea nu trebuie să omoare iepurele (injecţie intravenoasă) (Ramon şi Richou, 1936).

Purificarea şi concentrarea toxinei şi anatoxinei. Toxina şi anatoxina stafilococică pot fi purificate şi concentrate prin diverse metode (sulfat de amoniu, acid tricloracetic) însă cele mai bune rezultate sînt obţinute prin precipitare la pH = 3,5 (acid tricloracetic sau acid acetic), în prezenţa a două volume de alcool de 96° (Combiescu şi col., 1952).

Metodă. 1. Soluţia de toxină şi anatoxină se acidifică la pH=3,5 cu acid tricloracetic sau acetic şi se adaugă, imediat, 2 volume de alcool. Se obţine un precipitat.

2. Centrifugare 10 minute la 3 000 t/m.

3. Dizolvarea depozitului de centrifugare într-o cantitate mică de soluţie de carbonat de sodiu 4/100.

4. Cîteva ore în repaus. Se constituie un precipitat brun, care se elimină prin filtrare.

5. Filtratul se diluează cu ser fiziologic la volumul dorit şi el reprezintă toxina sau anatoxina.

Această metodă permite izolarea principiului activ în proporţie de 70—90% şi concentrarea sa într-un volum de 10—20 de ori mai mic decît cel iniţial. Soluţia de anatoxină purificată dă reacţia de floculare cu serul antitoxic. Ea produce imunitate.

Valoarea imunizantă a anatoxinei se poate determina fie prin conţinutul său în antigeni capabili să floculeze anticorpii sau să fixeze antihemolizinele dintr-un ser antitoxic cu titru cunoscut, fie prin capacitatea sa de a produce antitoxine la animale de experienţă.

Determinarea valorii floculante se face prin metoda Ramon, în aceleaşi condiţii ca şi pentru toxină. O doză fixă de anatoxină (5 ml) se amestecă, într-o serie de tuburi, cu doze crescînde de ser antitoxic, începînd cu 0,1, 0,15 şi sfîrşind cu 0,9 ml. Tuburile se pun la baie, la 45°C, şi se examinează în repetate rînduri şi la intervale scurte, pentru a vedea şi determina tubul în care apare întîi floculaţia şi care corespunde unei perfecte egalităţi a concentraţiei celor doi reactivi — antigen-anticorp. O dată acest tub aflat se determină numărul de unități antitoxice conținut de volumul de ser care a produs primul floculareа și acest număr se împarte la numărul de mililitri de anatoxină folosiți, determinînd astfel conținutul în unități floculante pe 1 ml.

Determinarea puterii de fixare a antihemolizinelor dintr-un ser imun se face astfel : cantități crescînde de anatoxină se amestecă, într-o serie de tuburi, cu o cantitate fixă de antitoxină — o unitate internațională ; lichidul se aduce la același volum, în fiecare tub, cu apă fiziologică. După 1 oră la 37°C, se adaugă, în fiecare tub, cîte 100 de doze minime hemolizante de toxină, precum și globule roșii de iepure. Citirea se face după 1 oră la 37°C și 18 ore la temperatura camerei. Cu cît hemoliza se produce în tuburi care conțin o cantitate mai mică de anatoxină, cu atît aceasta este mai activă.

Valoarea imunizantă a anatoxinei se determină, în cele mai bune condiții, pe iepure. Această determinare cere însă un timp mai lung și de aceea se aplică în cazuri speciale, cum ar fi introducerea unor noi tulpini în prepararea anatoxinei. În acest scop, în asemenea cazuri, anatoxina se inoculează subcutan, la iepuri, în trei timpi, la interval de 7 zile, respectiv cîte 3,5 și 5 ml. La 7 zile după fiecare injecție și înainte de injecția următoare de anatoxină se recoltează sînge și se determină conținutul serului în anticorpi antihemolitici. A cincea zi după a doua injecție se determină și puterea neutralizantă a serului animalului pentru cinci doze minime necrotice inoculate pe cale intradermică, pe care, atunci cînd anatoxina inoculată a fost activă, trebuie să le neutralizeze.

Valoarea imunizantă a anatoxinei poate fi demonstrată și prin alte mijloace. Astfel, se constată, că la iepurii vaccinați cu anatoxină și care conțin antitoxine în umori, o injecție subcutană cu stafilococi patogeni produce o inflamație intensă de tip alergic, care apare repede după injecție, dar dispare curînd după constituirea sa. La fel, s-a mai observat că toxina stafilococică produce la iepurii normali leziuni masive cu necroză intensă a pielii, în timp ce la cei vaccinați leziunile sînt minime. De asemenea, iepurii vaccinați rezistă la o inoculare intravenoasă de stafilococi în doză care omoară sigur martorii. Aceste diverse modalități de reacție pot fi folosite pentru a pune în evidență valoarea vaccinantă a anatoxinei ; ele dovedesc, în același timp, că imunitatea antistafilococică este de natură antitoxică.

Anatoxina este întrebuințată, pe o scară largă, în prevenirea și, mai ales, tratamentul infecțiilor stafilococice. Ea înlesnește apariția antitoxinelor, grăbind vindecarea procesului morbid.

Tabelul 4

Dozele de anatoxină (în mililitri) folosite în tratamentul diverselor stafilococii ale animalelor (după Ramon și col. 1942)

	Cal	Bou	Oaie	Cîine	Pisică	Iepure	Găină	Porumbel
Prima injecție	10	10	1	0,25	0,25	1	0,5	0,5
A doua injecție	15	15	2	0,50	0,50	2	1,0	1,0
A treia injecție	20	20	4	1,00	1,00	3	2,0	2,0
A patra injecție	20	20	4	2,00	2,00	4	2,0	2,0

Injecţiile cu ultima doză se pot repeta. În cazul cînd, după 6—7 injecţii, nu se obţine vindecarea, animalul este lăsat în repaus şi injecţiile cu anatoxină reîncep după un interval de timp cît mai lung posibil, în raport cu evoluţia bolii. Aceste reinoculări făcute după un repaus, favorizează formaţia anticorpilor.

Infecţiile stafilococice cele mai variate ca localizare şi evoluţie, pot beneficia de un tratament anatoxiterapic. La cal, anatoxina se poate aplica în furunculoza pielii, boala grebănului, mamite, complicaţii ale plăgilor de castraţie, artrite, osteomielite, limfangite, javart, cui de stradă ; în acest din urmă caz, ea se poate aplica chiar preventiv, pentru a evita infecţia plăgii. (Holstein şi Richou, 1941). La bovine, ea poate grăbi evoluţia şi vindecarea mamitelor stafilococice (Richou şi Holstein, 1941), limfangitelor, artritelor supurate, panariţiului interdigital etc. La cîine, anatoxina dă rezultate în tratamentul eczemelor, în stafilocociile interdigitale, la oi, în afecţiunile purulente ale pielii sau ale organelor interne, la porci în mamita stafilococică, la păsări în afecţiunile cutanate ale pielii.

La om, anatoxina se foloseşte în terapia tuturor infecţiilor stafilococice. Doza iniţială este de 0,1—0,2 şi ea este mărită, dacă este bine tolerată, de la o injecţie la alta, ajungîndu-se la 0,8 sau chiar 1 ml. Se administrează subcutan, la interval de 3—4 zile.

Serul antistafilococic. Serurile antimicrobiene provenind de la animale inoculate cu suspensii de stafilococi au proprietăţi aglutinante, precipitante etc., dar sînt lipsite de proprietăţi protectoare. Animalele inoculate însă cu anatoxină şi apoi cu toxină dau un ser antitoxic, capabil să neutralizeze secreţiile toxice ale stafilococilor. Serul stafilococic antitoxic, pentru scopuri terapeutice, se prepară pe cai. Ramon şi Richou recomandă să se folosească, în acest scop, animale care au un grad de imunitate naturală şi care iniţial conţin antitoxine în serul lor sanguin.

Primele injecţii se fac cu anatoxină în amestec cu tapiocă — 20, 50 şi 100 ml — şi apoi cu toxină amestecată în proporţie de 1% cu tapiocă — 150, 200, 300, 350 ml. Injecţiile cu toxină sau anatoxină se fac pe cale subcutană, la 6—7 zile interval. Iată un protocol de preparare a serului antistafilococic :

Prima injecţie : 20 ml anatoxină + 0,2 g tapiocă
A doua injecţie după 6 zile : 50 ml toxină + 0,5 g tapiocă
A treia injecţie după 3 zile : 75 ml toxină + 0,7 g tapiocă
A patra injecţie după 4 zile : 100 ml toxină + 1 g tapiocă
A cincea injecţie după 3 zile : 150 ml toxină + 1 g tapiocă

Injecţiile se fac subcutan. Animalele reacţionează local prin tumefacţii, abcese şi general prin febră, 38—39°C. Sîngerarea se face 9—12 zile de la ultima injecţie. Protocolul de mai sus se repetă înaintea fiecărei sîngerări. Titrul serului, la unele animale, scade după un număr oarecare de sîngerări, sub 100 unităţi antihemolitice pe 1 ml şi aceste animale trebuie eliminate de la producţia de ser stafilococic. Serul antistafilococic are proprietăţi antihemolitice, antinecrotoxice etc. Titrarea se face determinînd activitatea antihemolitică şi antinecrotică (Gross, 1933). Valoarea preventivă şi terapeutică a serurilor antitoxice, este redusă.

INFECȚIILE STAFILOCOCICE NATURALE

Procesele infecțioase de natură stafilococică pot fi localizate, la animale și om, în cele mai variate țesuturi și organe. Cele mai frecvente localizări sînt pe piele și mucoase, mai rar în organele interne. Forme septicemice se pot întîlni, atît la om, cît și la animale. Avorturi stafilococice s-au descris la vaci. Osteoartrite produse de stafilococi se întîlnesc la tineretul aviar. Sompolinski, Derszy Domokos (1953) afirmă că dermatita umedă a porcilor este produsă de un stafilococ alb. O localizare care prezintă o deosebită gravitate este cea mamară și ea se întîlnește la om și la majoritatea mamiferelor domestice. Infecția mamară rămîne localizată și numai excepțional se poate generaliza. La oaie, ea are însă o evoluție rapidă și de o deosebită gravitate.

Mamitele stafilococice la animale

(*Staphylococcic mastitis*)

Mamita stafilococică a oii, numită încă și mamita gangrenoasă sau răsfugul negru, este dintre toate mamitele stafilococice, cea mai importantă.

Mamita gangrenoasă este o infecție cu caracter sporadic și numai uneori enzootic, cu evoluție rapidă, frecvent mortală, care se întîlnește numai la oile în lactație, infecția avînd ca punct de plecare glanda mamară în funcțiune.

Boala a fost, se pare, descrisă întîi în Franța (Arboval, 1823) și tot în Franța i se stabilește, de către Nocard (1887), etiologia. În țara noastră, deși boala este destul de răspîndită, nu există date privind caracterele clinice și epizootologice ale infecției.

Pierderile economice produse de această infecție sînt însemnate. După mărturisirile diverșilor crescători, ea poate atinge, în unele turme, cifra de 15—20%. Un asemenea procent de morbiditate nu este atins decît excepțional, procentul mediu fiind de 1—3%. Doboși, de exemplu, observă că într-o turmă de 900 de oi s-au îmbolnăvit, în cursul unei enzootii, 26, adică 2,77%.

Infecția experimentală. Inoculați prin canalul galactofor sau introduși cu seringa în țesutul mamar la oaie, stafilococii de tip ovin produc o mamită gangrenoasă, avînd toate caracterele infecției naturale. Primele simptome apar după 10—12 ore de la infecție și constau din tumefacția mamelei injectate. Această tumefacție progresează repede și după 24 de ore glanda este mult mărită, mamelonul dilatat și în extensiune, pielea de pe glandă roșie. Mamela, în această primă fază, este caldă, dureroasă. Prin mulgere, se obține un lichid roșietic. Infecția locală influențează și starea generală. Animalul este trist, nu mănîncă, nu rumegă. Temperatura uneori este ridicată, alteori normală, 39—39,6°C. Infecția se poate extinde apoi și la mamela congeneră, edemul invadează țesuturile adiacente, coborînd pe coapse și întinzîndu-se pe fața ventrală. Pielea care acoperă glanda injectată devine cianotică-neagră și glanda mortificată este rece, iar sfîrcul flasc. În această fază a bolii starea generală a animalului este foarte gravă.

Oaia stă culcată, în decubit lateral, cu capul pe pămînt, respiră greu, temperatura subnormală. Animalul moare în colaps, după 48—72 de ore de la efectuarea infecției.

Stafilococul mamitei injectat la oaie, pe cale subcutană produce, în scurt timp, o tumefacție locală, care se întinde repede la țesuturile invecinate, cuprinzînd astfel regiuni mari din corp. Pielea care acoperă edemul se cianozează și animalul moare, în colaps, după 2—3 zile.

La autopsie se constată leziuni congestive și hemoragice. Numeroase puncte hemoragice se observă mai ales în jurul vaselor coronare.

Toxina stafilococică, injectată pe cale intramamară, la vacă, produce o inflamație trecătoare a glandei, care conferă însă animalului o stare relativă de rezistență față de o infecție făcută cu cultura unei tulpini virulente de stafilococ.

Infecția naturală. Arie geografică. Datele privind extensiunea bolii în diverse țări sînt foarte sărace.

În Bulgaria, infecția a fost semnalată, în 1938, de Ghenev, care identifică, în raionul Burgas, 10 focare, cu 134 de animale bolnave. În țara noastră boala, sub formă de cazuri sporadice, este răspîndită în toate regiunile. Focare enzootice grave s-au semnalat, de exemplu, în centrul Transilvaniei, ca și în Cîmpia Dunării sau în Dobrogea.

Frecvența sezonieră. Cazurile de mamită gangrenoasă apar numai la oile în lactație și în ceea ce privește anotimpul ele sînt situate către sfîrșitul primăverii și începutul verii. Toamna, către sfîrșitul perioadei de lactație, infecția este practic absentă sau apare foarte rar. Cea mai mare frecvență este întîlnită puțin timp înainte de înțărcarea mieilor și după începutul mulsului la strungă.

Materialul infecțios și calea de infecție. Stafilococii de tip ovin sînt singurii capabili să producă mamita gangrenoasă a oii. Într-adevăr, din infecțiile naturale se izolează numai tipul ovin, iar în condiții experimentale boala nu poate fi reprodusă decît de tipul ovin, tipul uman fiind nepatogen. Cum oamenii se infectează aproape constant numai cu tipul uman, înseamnă că afecțiunile stafilococice umane nu pot constitui un izvor de infecție pentru ovine. Mulgătorii care prezintă afecțiuni stafilococice nu pot deci transmite infecția lor la oile pe care le mulg sau le îngrijesc. Stafilococii de tip ovin, cu caractere de patogenitate, se găsesc și au putut fi izolați de Marica de pe pielea oilor normale, și, în consecință, se poate admite că infecția se face cu asemenea germeni. Nu s-a stabilit încă în ce proporție oile sînt purtătoare de stafilococi de tip ovin. Nu este exclus ca această proporție să fie însemnată și sporadicitatea infecției să nu fie datorită absenței agentului etiologic, ci absenței unor condiții propice declanșării infecției, pătrunderii germenului în glanda mamară. Accesul stafilococilor în glanda mamară pare să fie pasul cel mai greu de realizat. Într-adevăr, Nocard și Leclainche semnalează că badijonarea sfîrcurilor cu culturi patogene nu duce la instalarea infecției. Este necesar deci ca germenul, pentru a putea produce infecția, să fie introdus în țesutul mamar sau în canalul galactofor și acest lucru se realizează mai rar în condiții naturale, de aici caracterul sporadic al infecției. Introducerea germenului în țesutul mamar se face accidental. O asemenea introducere este probabil că se realizează prin soluţiile de continuitate ale pielii mamare, soluţii create prin muşcăturile mieilor, prin diverse corpuri dure sau printr-o manipulare brutală în timpul mulsului de către mulgătorii neexperimentaţi. Nu se poate spune dacă insectele hematofage pot realiza această transmisie. Este demn de semnalat că soluţiile de continuitate nu se observă la examenul ugerului animalelor bolnave. Canalul galactofor este probabil, uneori, o cale de acces al stafilococilor în glandă, fără a se putea preciza condiţiile în care acest acces se poate realiza. Ceea ce se poate spune, cu oarecare siguranţă, este că stafilococul pătrunde direct în glanda mamară şi nu vine în glandă pe cale limfatică sau hematogenă.

Epizootologie. Boala apare, de regulă, spontan, fără a i se putea stabili o origine exogenă efectivului în care şi-a făcut apariţia. Unii autori incriminează, ca transmiţători, oameni sau animale care au pătruns în turmă, fără însă ca această incriminare să se sprijine pe observaţii riguroase. Infecţia mamară poate fi uneori precedată de dermatite pustuloase sau de furuncule (Iliev şi col., 1955).

Caracterul de spontaneitate este însă evident în cele mai multe cazuri. În apariţia bolii intervin în afară de germeni şi alţi factori şi în special vegetaţia păşunii, prin spinii, arbuştii, care pot crea soluţii de continuitate la nivelul glandei mamare.

In unele turme se observă apariţia regulată a bolii în fiecare primăvară, ceea ce s-ar putea explica fie prin existenţa unui procent ridicat de purtători de germeni, fie prin existenţa unor condiţii care înlesnesc pătrunderea germenilor în glanda mamară. Ticu Virgil (comunicare personală) a urmărit evoluţia infecţiei într-o mare crescătorie de oi din balta Dunării (Gostat Borduşani), constatînd că boala a apărut în anii 1951-1952, făcînd, în medie, cîte 75 de victime în fiecare an. În anii 1953, 1954 şi 1955, cînd oile au fost scoase din baltă din cauza inundaţiilor, boala nu şi-a mai făcut apariţia, ceea ce arată importanţa pe care o are natura terenului în apariţia bolii. În unele turme, apariţia unui caz poate fi urmată de alte cazuri, boala avînd caracter enzootic. Se poate întîmpla însă să se îmbolnăvească una sau două oi şi apoi totul să intre în ordine. Contagiozitatea infecţiei este redusă sau nulă, în sensul că animalul bolnav nu transmite direct infecţia la oaia sănătoasă. Transmiterea se poate face însă indirect, prin mulgători, prin furaje sau prin sol. Germenii eliminaţi de oile bolnave se pot răspîndi în jur şi de aici accidental pot infecta un alt animal.

Procentul de morbiditate este în medie de 5—10% şi numai rar atinge 30% (Iliev şi col., 1955).

Receptivitate. Din datele care le avem, diversele rase de oi existente în ţara noastră sînt egal de receptive faţă de infecţia stafilococică mamară. Se semnalează însă unele deosebiri de receptivitate legate de vîrsta animalelor. Doboşi ne comunică, de exemplu, că într-un Gostat din raionul Istria s-au îmbolnăvit, din totalul de 900 de oi cu lapte, 26 de animale, din care 20 erau primipare. Ar reieşi din această observaţie că animalele tinere sînt mai receptive ca cele bătrîne. Aceste diferenţe, privind morbiditatea la primipare în raport cu oile de mai mulţi miei, pot fi însă datorite nu unei mai mari receptivităţi a animalelor tinere, ci faptului că la aceste animale se creează mai frecvent porţi de intrare a germenilor, prin actul mulgerii s-au prin suptul meilor. În general, aceste animale nu stau la muls și, din această cauză, sînt brutalizate de mulgători, creîndu-li-se, în special, leziuni tegumentare mamare.

Simptome. Boala apare brusc și ceea ce atrage atenția nu sînt leziunile mamare, ci modificările stării generale. În această fază, una sau ambele jumătăți ale ugerului sînt mult tumefiate, pielea care le acoperă fiind roz sau chiar cianotică. Țesuturile din jurul mamelei pot fi tumefiate și infiltrate cu lichid. Animalul este febril, 41—42°C, nu mănîncă și prezintă o stare de abatere gravă. La unele animale apare o diaree gravă și lîna se smulge cu ușurință (Iliev și col., 1955). Moartea poate surveni în scurt timp, 1—2 zile după apariția simptomelor. Un procent mic de animale — 5—50% — rezistă infecției. Ghenev (1938) observă că din 134 de animale bolnave, 73 (54,4%) au murit. La animalele care nu mor, mamela (una sau amîndouă) se mortifică, se elimină, lăsînd în urmă o plagă mare care se cicatrizează foarte încet, 1—2 luni. Animalul, în acest timp, este suferind și slăbește, astfel că, din punct de vedere economic, este mai recomandabil ca el să fie sacrificat decît tratat.

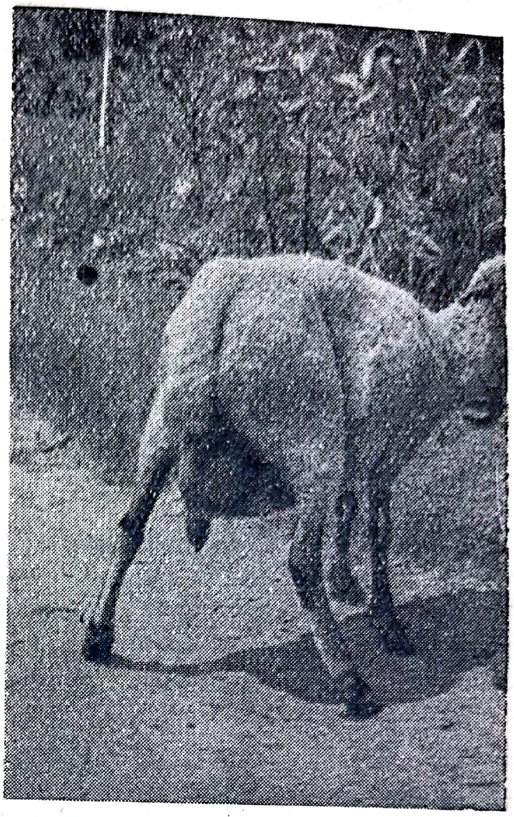


Fig. 9 — Oaie cu mamită stafilococică unilaterală

Faza incipientă cu mamela tumefiată și mamelonul stîng turgescent

Vindecarea se observă mai frecvent la animalele la care leziunea rămîne localizată la mamelă și nu cuprinde și țesuturile învecinate. În acest din urmă caz moartea survine cu regularitate.

Infecția naturală a mamelei la alte specii de animale decît oaia. Stafilococii pot invada și glanda mamară a altor specii de animale decît oaia. Mamite stafilococice s-au descris, într-adevăr, la vacă, capră, scroafă, cățea, iepuroaică etc. În unele regiuni, mamita stafilococică a vacilor este tot așa de frecventă ca și cea streptococică. Minett și col., (1929), examinînd 113 probe de lapte au găsit streptococi în 82 de probe, stafilococi în 6 *St. pyogenes* în 21, Gram negativ în 3 și bacilul necrozei în 1. Mamitele streptococice sînt totuși, după aceste date, cele mai frecvente. Infecția naturală a glandei mamare la vacă, capră, porc etc., se face, probabil, în aceleași condiții ca și la oaie. La vacă ea rămîne localizată la sfertul infectat, pe care îl poate gangrena, fără însă a pune în pericol viața animalului.

Infecția are, de regulă, o evoluție cronică; se produce o indurare a mamelei și modificări consecutive ale laptelui. Laptele prezintă o alcalinitate crescută, un număr mare de leucocite și o scădere a greutății specifice (Minett, 1937). La capră, infecţia are aceeaşi evoluţie ca şi la oaie. La scroafă şi căţea, infecţia este localizată la una sau mai multe mamele. La căţea, infecţia mamară este însoţită de simptome generale ca febră, dispnee, hematemeză şi hematurie, şi ea poate evolua spre un abces sau spre gangrenă, care este uneori, mortală. Lesbouyries şi Berthelon (1938) afirmă că mamita stafilococică a căţelei se apropie, ca simptome şi evoluţie, de cea de la oaie. Germenii par a fi, după autori, mult apropiaţi sau chiar identici.

La iepuroaică, infecţia poate îmbrăca, în crescătorii, un caracter enzootic. Şoituz (1930) relatează că în crescătoriile de iepuri în care cuştile sînt suprapuse, transmisia şi întinderea infecţiei se fac cu mare uşurinţă, cuprinzînd un procent important de animale. Germenul se localizează în mamelă, provocînd o mamită purulentă. Animalele afectate nu-şi pot creşte puii.

Modificări anatomo-patalogice. La oile moarte, în 1—2 zile de la apariţia simptomelor, se constată tumefacţia glandei şi mamelonului, cianoza pielii, de pe una sau ambele glande, edem subcutan al regiunilor adiacente. Pe secţiune glanda infectată este roşie-cărămizie sau cenuşie, prezentînd mici puncte albe, purulente. Ţesutul conjunctiv subcutan este puternic infiltrat cu un lichid roşiatic. În cavitatea peritoneală se poate găsi, la fel, un lichid roşiatic. Splina este normală, vasele mezenterice congestionate, pulmonul edemaţiat şi congestionat. Ganglionul aferent glandei mamare este hipertrofiat, el putînd atinge mărimea unui rinichi de purcel de lapte. Pe suprafaţa sa se observă zone hemoragice întinse. Histologic, în glanda mamară se găsesc zone de necroză cu nuclei picnotici sau chiar fragmentaţi. În aceste zone sînt prezenţi numeroşi stafilococi, grupaţi în grămezi sau răspîndiţi în masa necrotică. Stafilococii, sub formă de grămezi (colonii), se găsesc şi în acinii glandulari, care îşi conservă forma şi ale căror celule nu prezintă leziuni manifeste.

Este de remarcat că atît în focarele necrotice, cît şi în jurul coloniilor de stafilococi din acinii glandulari reacţia inflamatorie este complet absentă.

Diagnostic. Evoluţia şi caracterul infecţiei sînt suficient de caracteristice pentru a putea permite un diagnostic clinic. Boala nu poate fi confundată cu agalaxia contagioasă a oilor şi caprelor. În această din urmă infecţie se constată o edemaţiere a glandei mamare şi chiar a ţesuturilor din jur, dar niciodată nu se observă eritemul şi, mai ales, cianoza pielii de pe mamelă şi nici simptomele generale grave, care însoţesc inflamaţia stafilococică a glandei mamare. În plus, în mamita gangrenoasă nu se observă niciodată localizări articulare sau oculare, în timp ce asemenea procese se întîlnesc frecvent în agalaxia contagioasă.

În laborator, diagnosticul mamitei gangrenoase se face lesne prin metodele obişnuite — frotiuri şi culturi. Stafilococii se găsesc constant pe frotiurile făcute din lapte sau din ţesutul mamar, în special din focarele albicioase purulente care sînt diseminate pe suprafaţa de secţiune a glandei. În lichidul rezultat prin raclajul suprafeţei de secţiune a glandei se găsesc, de regulă, numeroşi stafilococi. Ei sînt grupaţi cîte doi, cîte patru sau în grămezi; sînt de talie mică, în raport cu alţi stafilococi.

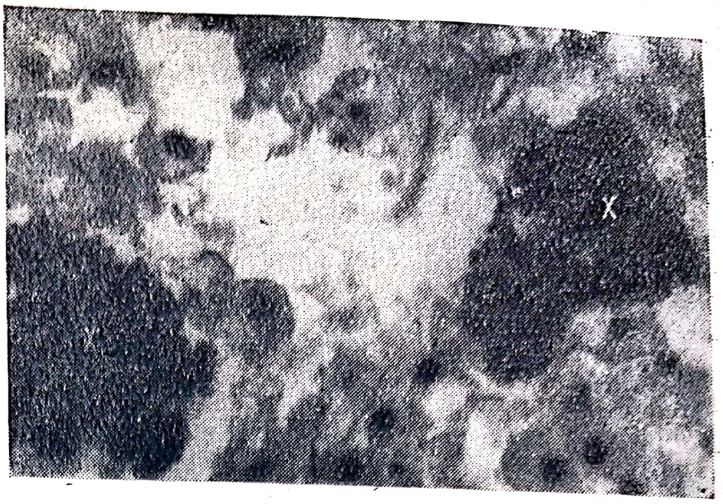


Fig. 10 — Secţiune prin mamelă de oaie cu mamită gangrenoasă

Se observă două colonii de stafilococi (x)

Culturile din lapte, ca şi din ţesutul mamar, sînt constant pozitive. Pe agar se dezvoltă colonii mici, rotunde, bombate de regulă, nepigmentate. Stafilococii secretori de pigment auriu, asemănători celor ce se izolează din procesele purulente de la om, nu se izolează din cazurile de mamită gangrenoasă.

În lichidul roşiatic, care infiltrează ţesutul conjunctiv din jurul glandei şi care se scurge abundent pe secţiune, nu se găsesc stafilococi în frotiuri. Chiar culturile din acest lichid rămîn, de regulă, sterile. Este de semnalat această imposibilitate a stafilococului de a se răspîndi în ţesuturile din jur, deşi toxina difuzează, alterează vasele şi hemolizează globulele roşii extravazate. Germenul rămîne, de cele mai multe ori, cantonat în glanda în care a pătruns, iniţial. El nu trece, în mod constant, nici în glanda congeneră, care îşi poate păstra nu numai sterilitatea, dar şi funcţiunea şi aspectul normal. Secţionînd transversal cele două glande, la o oaie, moartă în urma infecţiei unei singure mamele, sîntem izbiţi de diferenţa netă de aspect între cele două glande şi de precisa delimitare a infecţiei.

În ganglionul aferent glandei afectate se găsesc, de regulă, stafilococi atît în frotiuri cît şi în culturi.

Mamita stafilococică a vacilor se poate diagnostica bacteriologic. Clinic, în comparaţie cu mamita streptococică, ea are o evoluţie mai rapidă. Glanda infectată cu stafilococi este caldă, dureroasă, simptome care nu se observă şi nu au, de regulă, o asemenea intensitate în mamita streptococică. Unii autori arată că aspectul lichidului muls dintr-o glandă infectată diferă după natura agentului infecţios. Laptele muls dintr-o mamelă cu infecţie streptococică prezintă, după ce a stat 24 de ore în repaus, într-un tub, un depozit de coagulare albicios, acoperit cu un strat înalt de ser lactic, mai mult sau mai puţin limpede ; în aceleaşi condiţii, un lapte provenind dintr-o mamelă infectată cu stafilococi este în totalitatea sa opalescent, iar depozitul pe care-l prezintă se omogenizează prin agitare, la suprafaţă constituindu-se o spumă abundentă. În mamitele mixte există şi depozit şi spumă.

Bacteriologic, în scop diagnostic, se face examenul microscopic şi cultural al laptelui. Cultural şi chiar morfologic streptococii se diferenţiază uşor de stafilococi. Pentru izolarea stafilococilor din laptele vacilor cu mamită se foloseşte, cu succes, metoda aplicată în izolarea streptococilor. În tuburi de 18 × 110 mm se pune cîte 1 ml de soluţie 0,33% de purpur de bromcrezol, peste care se adaugă 14—17 ml din laptele de examinat. Tuburile sînt lăsate la termostat 24—48 de ore și apoi din ele se fac frotiuri și culturi în plăci Petri cu agar, conținînd sînge de bou sau de oaie. Tulpinile obținute de pe coloniile de pe agarul cu sînge sînt examinate din punct de vedere al activității hemolitice și coagulante.

Profilaxie și tratament. Infecția poate fi prevenită evitînd lezarea pielii în timpul mulsului sau în timpul păscutului. Admițînd că stafilococii s-ar găsi pe terenul pe care oile se odihnesc, se recomandă în cazul apariției infecției, schimbarea locului. Măsura dă rezultate, după unii practicieni.

Metodele de vaccinare preventivă au fost și sînt încă folosite în combaterea bolii. Drept vaccin se întrebuințează suspensii de germeni (cultură în bulion) omorîți prin formol. Institutul „Pasteur" prepară un vaccin constituit dintr-o cultură în bulion de 24 de ore, formolată 0,5%. Vaccinul se injectează pe cale subcutană, în două reprize, la 8 zile interval. Prima injecție se face cu 2 ml și a doua cu 3 ml. Vaccinarea este bine să se facă, în regiunile în care infecția este frecventă, înainte de fătare, astfel ca oile, cînd încep să fie mulse, să aibă o stare de rezistență față de germen. Rezultatele obținute, în practică, cu acest vaccin, sînt contradictorii, astfel că, dat fiind mai ales caracterul sporadic al infecției, nu se pot încă trage concluzii valabile, privind eficacitatea sa. Minett (1939) folosește ca antigen vaccinant anatoxina, obținînd rezultate favorabile. Anatoxina precipitată cu alaun se injectează direct în mamelă. Iliev și colaboratorii (1955) afirmă că anatoxina dă rezultate mai bune ca anaculturile. Stoicev și Sumrov (1956) obțin rezultate bune cu un amestec de anacultură și anatoxină.

Tratamentul mamitei stafilococice a oilor este dificil, dat fiind evoluția rapidă a bolii și gravitatea leziunilor locale. Viața animalului ar putea fi salvată prin antibiotice, dar funcțiunea mamelei infectate este, de cele mai multe ori, definitiv pierdută.

Injecțiile intramamare cu antiseptice sînt fără rezultat. Dimpotrivă, penicilina, administrată intramamar, atît în mamita stafilococică a oilor, cît și a vacilor dă bune rezultate. Injectată la oaie, în doză de 10 000—20 000 U.I. ea suprimă fenomenele toxice și poate chiar reda funcțiunile glandulare, dacă intervenția s-a făcut înainte de a se produce leziuni ireparabile — gangrena. Tratamentul la oaie se aplică astfel: se mulge tot lichidul conținut de glandă și apoi oaia se culcă lateral și penicilina, diluată în 50—100 ml de ser fiziologic, se introduce, cu un ac bont în glandă. Glanda se malaxează ușor, pentru a înlesni difuziunea lichidului. Penicilina se diluiază cu ser fiziologic sau, în lipsă în apă fiartă și răcită. Tratamentul la vaci se aplică în aceleași condiții și în același dozaj ca și pentru mamita streptococică. Unii clinicieni recomandă să se injecteze fiecărui sfert infectat cu stafilococi de șase ori cîte 50 000 U.I. de penicilină. Injecțiile se fac la 12 ore interval. Antibioticul se emulsionează cu ulei vegetal, care conține 3% ceară de albine. La vacile sterpe doza de penicilină poate fi redusă de 50 de ori (1 000 U.I. de penicilină pentru fiecare injecție), deoarece antibioticul nu este diluat prin lapte, așa cum se întîmplă la vacile care sînt în perioada de lactație.

Penicilina se poate emulsiona și în ulei sterilizat, astfel ca 2 ml de emulsie să conțină 25 000 U.I. Pentru a se face amestecul, penicilina se dizolvă în puțină apă și apoi se amestecă cu ulei. În fiecare sfert se injectează 2 ml de emulsie. După injecție, care se face prin canalul galactofor, se presează sfîrcul cu două degete și prin masaj de sus în jos se trimite emulsia cît mai sus în mamelă. Injecția cu penicilină se repetă de trei ori, și anume: prima injecție se face după mulsul de dimineață, a doua după mulsul din seara aceleiași zile și a treia după mulsul de a doua zi dimineața. Seriile de cîte trei injecții se pot repeta, cînd rezultatele primei serii sînt nefavorabile. În comparație cu soluțiile apoase, emulsia de penicilină în ulei dă mai bune rezultate.

BIBLIOGRAFIE

BARBER M. și col. — *J. Path. Bact.*, 1951, 63, p. 57 și p. 65.
BERGER — *Jour. Path. Bact.*, 1943, 55, p. 435.
BERGNER E. și col. — Determinarea activității fosfatazice la stafilococi. 1956 (inedită).
BOLLE A. — Comparația biochimică a unei tulpini sensibile (Staph. aureus, Londra) cu o tulpină rezistentă (Staph. Leg.) la antibiotice. *Ann. Inst. Past.* 1955, 88, p. 258.
BRYCE M. L. și col. — Producția toxinei la stafilococi. J. *Path. a, Bact.*, 1937, 43, p. 173.
CADNESS-GRAVES și col. — *Lancet*, 1943, i, p. 736.
CHAPMAN G. și col. — Izolarea stafilococilor probabil patogeni. *J. Bact.*, 1937, 33, p. 533
COMBIESCU D., COMBIESCU C., POPESCU C., ILIESCU M. și RACOVEANU M. — Cercetări experimentale asupra tratamentului specific al infecțiilor stafilococice, *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1942, 12, p. 495.
COMBIESCU C. și col. — Concentrarea și purificarea anatoxinei stafilococice, *Revista de igienă, microbiologie și epidemiologie,* 1952, nr. 2, p. 18.
COMBIESCU C. și col. — Intoxicații alimentare produse de stafilococ, *Arch. Rom. Epid. Microbiol.* 1956, p. 191.
COWAN S. T. — *J. Path. a. Bact.*, 1938, 46, p. 31 ; 1939, 48, p. 169 și p. 545.
CHRISTIE R. și KEOGH E. V. — *J. Path. a. Bact.*, 1940, 51, p. 189.
DANELIAN S. — Pelagra porcilor, *Veterinaria,* 1950, nr. 1 p. 49.
DESCAZEAUX J. și RICHOU R. — Cercetări asupra imunității stafilococice dobîndite pe căi naturale la diferite specii animale, *Bull. Acad. Vét. de France,* 1935, 8, p. 374.
DOLMAN C. E. și col. — O nouă metodă pentru a descoperi enterotoxina stafilococică, *Cand. J. Publ. Health.*, 1936, 27, p. 477.
DOLMAN E. C. și WILSON — *J. Immunol.*, 1938, 35, p. 13.
DUTHIE E. și WYLIE J. — Influența agitației asupra producției de toxină solubilă la bacterii, *Brit. J. Exp. Path.*, 1945, 46, p. 130.
FINK C. F. și JENNISON W. M. — Creșterea și pigmentarea stafilococului auriu în culturi agitate, *Bact. Proceed.*, 1950, p. 144.
FISK T. R. — *J. Inf. Dis.*, 1942, p. 153.
FISHER M. A. — Proprietatea stafilococilor de a coagula plasma. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1936, 59, p. 393.

FORFAR I. şi col. — Infecţiile stafilococice la nou-născuţi trataţi cu eritromicină, *Lancet*, 1955, 686, p. 584.

GERNEZ-RIEUX CH. şi col. — Toxiinfecţiile alimentare produse de stafilococi. *Presse médicale*, 1947, 50, p. 265.

GAMOVA-KAIUKOVA N. I. — Un mediu diferenţial pentru izolarea stafilococilor din produse alimentare, *Microbiologhia*, 1951, 20, p. 337.

GLADSTONE P. G. — Producţia hemolizinei stafilococice alfa într-un mediu chimic definit, *Brit. Exp. Med.*, 1938, 19, p. 208.

GROSS H. — Hemolizinele filtrabile ale stafilococilor, *Zbl. f. Bakt.*, 1931, 123, p. 212.

GROSS H. — Coagulaza stafilococică, *Zbl. f. Bakt.* 1931, 122, p. 359.

GROSS H. — Titrarea serului stafilococic antitoxic, *Z. f. Imunitätsf.*, 1933, 79, p. 163.

GLENNY I. A. şi STEVENS F. M. — Toxina şi antitoxina stafilococică, *J. Path. a. Bact.*, 1935, 40, p. 201.

GHENEV CHR. — Contribuţii la studiul mamitei enzootice gangrenoase la oaie. *Veterinaria Sbirna*, 1938, 42, p. 177.

HALE H. I. şi SMITH W. — Influenţa coagulazei asupra fagocitozei stafilococilor, *Brit. J. Exp. Path.* 1945, 26, p. 209.

HAGEMANN G. — Cercetări privind diferenţierea tipurilor de stafilococi, *Zbl. f. Bakt.*, 1937, p. 40, p. 108.

HOLSTEIN G. şi RICHOU R. — Anatoxina stafilococică şi folosirea ei în tratamentul supuraţiilor la cal, *Réc. Méd. Vét.*, 1941, 117, p. 116.

ILIEV T. şi col. — Cercetări asupra epizootologiei mastitei gangrenoase la oi şi capre în Bulgaria, *Naukii Trudove. Fac. Med. Vet.* Sofia, 1955, 4, p. 49.

ILIEV T. şi col. — Cercetări asupra clinicii şi tratamentului mastitei gangrenoase a oilor şi caprelor, *Naukii Trudove, Fac. Med. Vet.* Sofia, 1955, 4, p. 109.

JOYER L. A. şi col. — Efectul exotoxinei stafilococice asupra leucocitelor şi măduvei osoase a iepurelui, *J. Bact.*, 1935, 33, p. 45.

JUHÁSZ B. şi TAKÁCS J. — Proprietăţilor tulpinilor de stafilococi şi identificarea enterotoxinei, *Acta Vet. Med. Scient. Hungaricae*, 1956, 6, p. 141.

JULIANELLE A. L. — *J. Inf. Dis.*, 1922, 31, p. 256.

JULIANELLE A. L. — Determinarea tipului de stafilococi prin fermentarea manitei, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1937, 36, p. 117.

JULIANELLE A. L. — Specificitatea imunologică a stafilococilor *J. Bact.*, 1937, 33, p. 43.

KLASTRUP O. — Mediu solid pentru determinarea proprietăţilor coagulante a stafilococilor din ugerul bovinelor, *Nord. Med. Vet.*, 1954, 6, p. 173.

KLASTRUP O. — Agarul cu cristal violet pentru izolarea stafilococilor din probele de lapte recoltat aseptic, *Nord. Vet. Med.*, 1955, 7, p. 315.

KOJIMA T. şi KODAMA T. — Studii asupra toxinei, toxoidului şi antitoxinei stafilococice, *Kitasato Arch. Exp. Med.*, 1939, 16, p. 197.

KOURILSKY R. şi MERCIER P. — Studii asupra infecţiei stafilococice la om. *Rev. Immunologie*, 1940, 16, p. 16, p. 116

KOURILSKY R. şi col. — Transformarea unei tulpini nepatogene de stafilococ, provenind dintr-o singură celulă în grupul patogenilor, *C. R. Soc. Biol.*, 1943, 136, p. 462.

LIEB şi col. — Asupra coagulării plasmei de către St. aureus, *Arch. Hyg., u. Bakt.*, 1943, 1, p. 31.

LESBOUYRIES şi BERTHELON — Mamita stafilococică la căţea. *Rev. Méd. Vét.*, 1938, 114, p. 610.

LYONS C. — Imunitatea antibacteriană față de stafilococii patogeni, *Brit. J. Exp. Path.*, 1937, 18, p. 411.

MADISON R. R. — Stafilococii fibrinolitici, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 1935, 35, p. 209.

MERCIER P., PILLET J., CHABANIER P. și ORTA B. — Caracterul biologic al stafilococilor izolați din intoxicații alimentare și metodele de detecție a enterotoxinei stafilococice, *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 80, p. 563.

MINETT C. F. — Studii asupra mastitei bovine XII. Mastita datorită stafilococilor, *J. Comp. Path. a. Therapy,* 1929, 43, p. 213 și 1937, 50, p. 101.

MINETT C. F. — Prevenția mastitei ovine prin toxoidul stafilococic, *J. Comp. Path. a Therapy,* 1939, 52, p. 167.

MESROBEANU L. și MITRICĂ N. — Antibiotice și variațiune microbiană, *Studii și cercetări de Inframicrobiologie,* 1951, 2, p. 307.

NOCARD ED. — Asupra mamitei gangrenoase a oilor cu lapte, *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 417.

PAVLOS J. — Încercări de a transmite la pești germeni patogeni pentru animalele cu sînge cald, *Zverolek Rozpr.,* 1936, p. 207, *Ref. Bull. Inst., Past.,* 1837, 35, p. 826.

PERAGALLO J. — Posibilitatea de identificare a eventualelor tipuri imunologice ale stafilococilor, *Gior. Batter., Immunol.,* 1937, 18, p. 577.

PIKKARAINEN J. — Intoxicație alimentară produsă de Staph. aureus, *Zbl. f. Bakt.,* 1939, 143, p. 60.

PILLET J. și col. — Studiu biologic al stafilococilor de origine animală, *Ann. Inst. Past.* 1950, 70, p. 638.

PILLET J. și ORTA B. — Cercetări asupra aglutininelor heterologe în serurile antistafilococice, *Ann. Inst. Pasteur,* 1953, 84, p. 420.

RAMON G. și col. — Asupra prezenței antitoxinei stafilococice la om și la diferite specii animale. *Rev. d'Immunologie,* 1935, 1, p. 401.

RAMON G. și RICHOU R. — Asupra dozajului toxinei stafilococice, *C. R. Soc. Biol.,* 1936, 121, p. 379 și 517.

RAMON G., BOIVIN A. și RICHOU R. — Asupra obținerii toxinei și anatoxinei stafilococice într-un mediu de compoziție chimică definită, *C. R. Acad. Sci.,* 1938, 207, p. 466.

RAMON G. și RICHOU R. — Transformarea toxinei stafilococice în anatoxină, *Rev. d'Immunologie,* 1940, 6, p. 56.

RAMON G., RICHOU R. și HOLSTEIN G. — Aplicarea anatoxinei stafilococice în tratamentul specific al diverselor afecțiuni datorite stafilococului la animalele domestice, *Bull. Acad. Vét. de France,* 1942, 15, p. 55.

RICHOU R. și HOLSTEIN G. — Contribuții la studiul mamitei vacii și în special al mamitei stafilococice. Tratamentul prin anatoxina specifică, *Bull. Acad. Vét. de France,* 1941, 14, p. 100.

RICHOU R. și col. — Puterea bactericidă a apei de mare față de stafilococi, *Rev. d'Immunologie,* 1955, 19, p. 64.

RIGDON H. R. — Acțiunea inhibitoare a clorurii de sodiu asupra necrozei cutanate produsă de toxina stafilococică, *Arch. of. Path.,* 1936, 22, p. 729.

ROBINTON — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1949, 72, p. 265.

SEIFERT W. — Stafilotoxina, *Zbl. f. Bakt.,* 1935, p. 100.

SMITH M. L. — Influenţa glicerinei asupra necrozei cutanate produsă de toxina stafilococică, *Brit. J. Exp. Med.*, 1937, 18, p. 265.

SMITH M. L. şi PRICE A. S. — Hemolizina stafilococică, *J. Path. a. Bact.*, 1938, 47, p. 361 şi p. 379.

SMITH W. şi col. — Rolul coagulazei în infecţia stafilococică, *Brit. J. Exp. Path.*, 1947, 28, p. 57.

SHRINGLEY W. E. şi MACULLO S. E. — Caracterele principiului aglutinant din lichidul alantoamniotic răspunzător de aglutinarea unor tulpini de Staph. aureus, *J. Bact.*, 1949, 58, p. 791.

SUDHUES M. — Fenomenul de coagulare a plasmei la oamenii cu infecţii stafilococice *Z. f. Immunitätsf.*, 1933, 80, p. 42.

ŞOITUZ V. — Asupra unui stafilococ adaptat la glanda mamară a iepuroaicei, *Revue Path. Comp. et Hyg. Générale*, 1930.

STAMATIN N., TACU A., şi MARICA D. — Activitatea hemolitică şi coagulantă a stafilococilor izolaţi din infecţii umane sau animale, *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, 76, p. 178.

STAMATIN N., TACU A. şi MARICA D. — Diferenţierea, în cadrul speciei Staphylococcus pyogenes, a două variante: umană şi ovină, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1949, 1, p. 96.

STOICEV ST. şi SUMROV I. — Experienţe privind producţia unui vaccin eficace contra mamitei gangrenoase a oilor. *Sbornic naucino Instituti*, 1956, 7, p. 85.

SONNENSCHEIN K. — Creşterea bacteriilor pe agar cu 10% alcool. Mediu electiv pentru stafilococi, *Zbl. f. Bakt.*, 1930, 116, p. 218.

TAYLOR J. I. şi MACDIARMID A. — *J. Comp. Path. a. Therapy*, 1948, p. 134.

TOPCIU V. şi col. — Mediile de izolare a stafilococilor enterotoxici şi identificarea lor prin proba biologică *Rev. Ig. Microbiol. Epidemiologie*, 1953, nr. 2, p. 47.

VIGODCIKOV G. — Microbiologia şi imunologia afecţiunilor stafilococice, *Medghiz*, Moscova, 1950.

WAHL R., LAPEYRE şi MENSIGNAC P. — Identificarea stafilococilor prin bacteriofagi, *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, 78, p. 353 şi 765.

WILLIAMS. şi TIMMINS. C. — *Med. J. Austr.* 1938, 2, p. 687.

WILSON G. S. şi ATKINSON J. D. — *Lancet*, 1945, 1, p. 647.

WOODS F. E. şi PARKIN J. B. — Testul plăcilor pentru producţia coagulazei la stafilococi, *Austr. J. Exp. Biol.* 1946, 24, p. 33.

YONEMURA N. — *Z. f. Immunitätsf.*, 1936, 89, p. 392.

Genul *Sarcina* Goodsir, 1842

În genul *Sarcina* sînt cuprinse o serie de specii. Germenii se divid în trei planuri şi constituie forme regulate, în pachete de cîte 8 celule, sau mai mult, 16, 32 etc. În general, Gram pozitiv. Unele specii sporulează *(Sarcina ureae)*, altele sînt nesporulate. Se dezvoltă pe medii obişnuite. Pe agar dau colonii mari, pigmentate. Lichefiază, de regulă, gelatina. În general, saprofite. Se izolează din aer şi infectează, deseori, diversele culturi. Specia tip: *Sarcina ventriculi*.

Sarcina ventriculi Goodsir, 1842

Morfologie. Celula este rotundă. Gruparea caracteristică genului. Dimensiuni însemnate, 3—4 microni. Germenul este nesporulat, imobil și Gram pozitiv.

Caractere de cultură. Aerob facultativ. Temperatura optimă 37°C, pH optim =1,5—5. Limite de dezvoltare pH=0,9—9,8. Se dezvoltă pe medii cu zaharuri și peptonă, precum și pe agar nutritiv cu glucoză. Pe medii solide formează colonii mari, de culoare albă. Produce gaze în bulion glucozat. Nu crește în apă peptonată. Nu modifică laptele, nu lichefiază gelatina, nu produce indol. Fermentează celuloza.

Habitat. Se găsește în stomac la ierbivore, precum și în pămînt, bălegar. Incriminat ca agent al unor inflamații ale mucoasei stomacale la ierbivore.

Genul *Gaffkya* Trevisan, 1885

În genul *Gaffkya* sînt descrise doar cîteva specii. Specia tip: *Gaffkya tetragena.*

Morfologie. Celule rotunde, care măsoară 0,6—0,8 microni și care sînt grupate, adeseori, cîte patru. Gram pozitiv.

Caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii obișnuite. Pe agar formează colonii albe, lucioase. În bulion produce un depozit vîscos, mediul rămînînd clar.

Habitat. Se izolează de pe mucoasa căilor respiratorii, din spută, de pe piele și din aer.

SUBGRUPA COCILOR GRAM POZITIVI ȘI GRUPAȚI CÎTE DOI SAU ÎN LANȚURI

Din această subgrupă se vor descrie două genuri, și anume: genul *Diplococcus* cu speciile *D. pneumoniae* și *D. pluton* și genul *Streptococcus*, cu speciile *Str. pyogenes*, *Str. equi* etc.

Genul *Diplococcus* Weichselbaum, 1886

Diplococcus pneumoniae Weichselbaum, 1886

Numele comun sau uzual: *pneumococul*

Germenul a fost descoperit și descris, ca microbul septicemic al salivei, de Pasteur și colaboratorii săi, care în 1881, inoculînd saliva unui copil mort de turbare la un iepure, obțin o infecție septicemică și mortală, izolînd din cadavrul animalului un diplococ. Weichselbaum și, concomitent, Fränkel, în 1886, au meritul de a fi identificat pneumo-

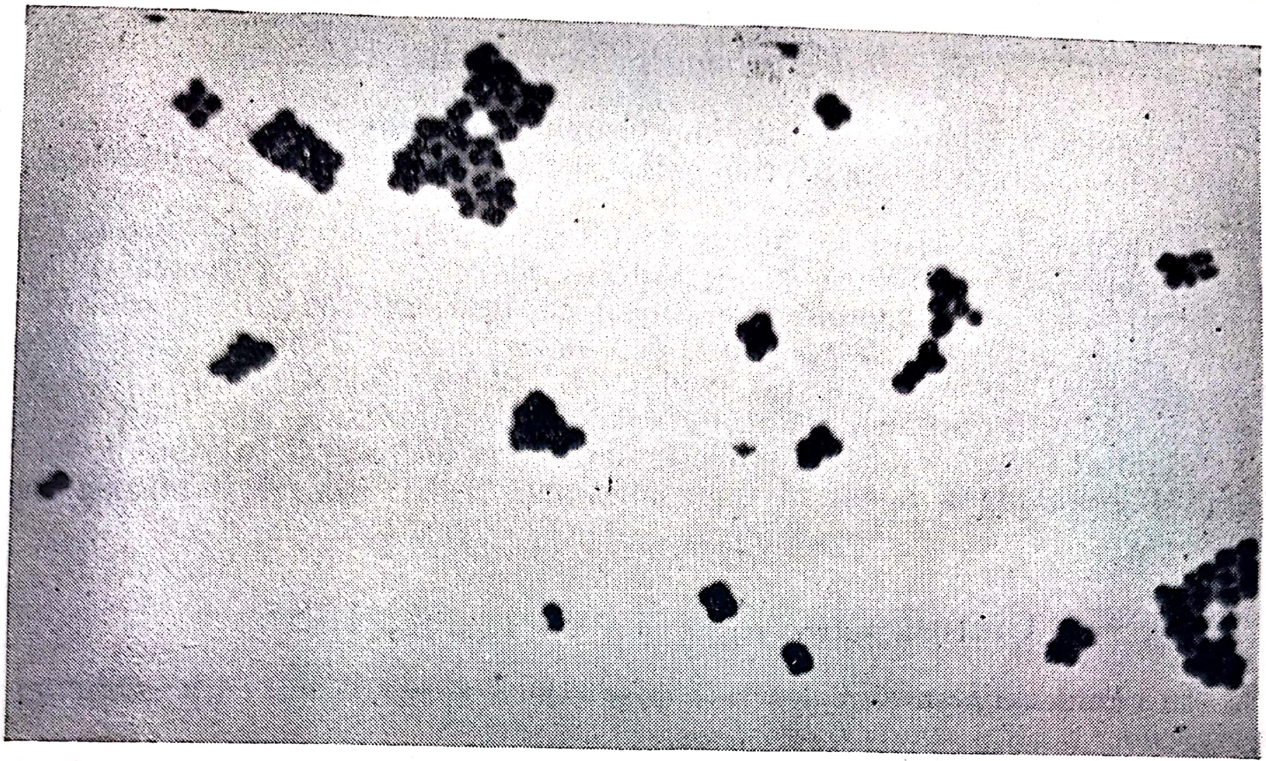


Fig. 11 — *Micrococcus tetragenus* (din Jordan-Burrows, 1950)
Colorație: fucsină

cocii ca agenți ai pneumoniei umane. Gamaleia, în 1888, îi dă numele de *Streptococcus lanceolatus pasteuri* și apoi cel de *lanceolatus*. Separarea pneumococului de streptococi și crearea pentru el a genului *Diplococcus* este nefondată după Topley și Wilson, care îl încadrează în genul *Streptococcus* sub numele de *Str. pneumoniae*. Pneumococul are, într-adevăr, numeroase proprietăți comune cu streptococii piogeni, cum sînt forma, modul de grupare, unele proprietăți biochimice etc. Păstrarea genului *Diplococcus* se justifică prin caracterul infecției pe care germenul o produce la om, precum și pe unele însușiri proprii acestor germeni și diferite de ale streptococilor. Ni se pare, de asemenea, ceea ce a contribuit de altfel la conservarea genului *Diplococcus*, că practica medicală a acceptat și însușit acest termen și că în general pneumococii sînt descriși și studiați separat de streptococi.

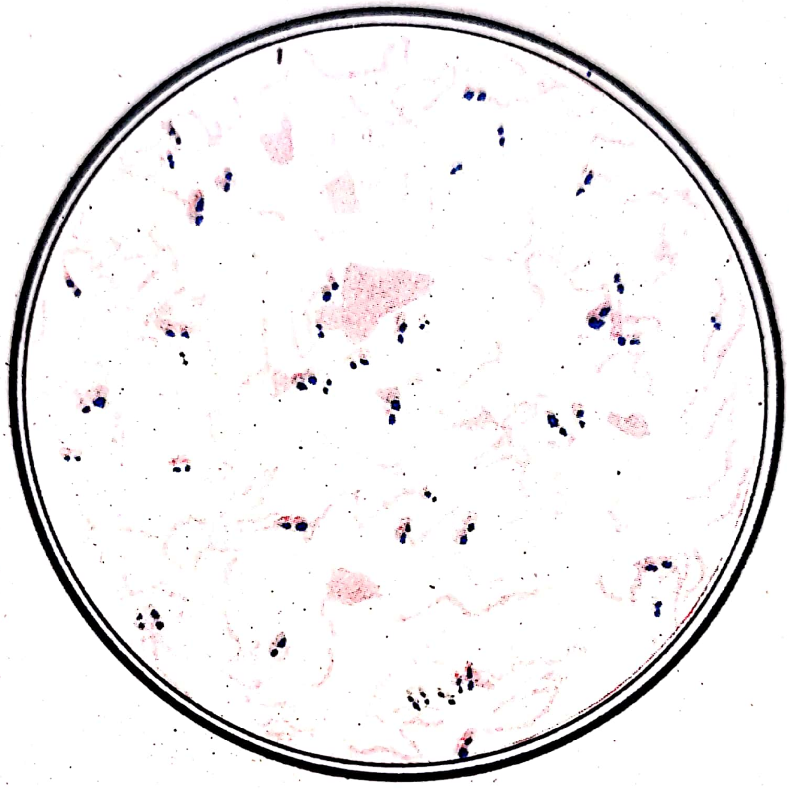
Morfologie. Germen ușor alungit, oval, măsurînd 0,5—1,25 microni. Celulele se grupează cîte două, mai rar izolate ; în medii lichide este dispus în lanțuri de lungime variabilă. Aciliat și nesporulat.

Germenii virulenți (formele S) sînt capsulați, cei nevirulenți (formele R) sînt necapsulați. Capsula se colorează cu soluția Giemsa.

Gram pozitiv. Se colorează cu soluțiile colorante obișnuite.

Medii și caractere de cultură. Germenul este serofil și aerob facultativ. Crește pe medii cu ser sau sînge sau pe medii speciale. Glucoza îi favorizează multiplicarea. Nu crește sau crește slab în bulion sau agar fără ser. Nu crește pe cartof. Tulbură mediile lichide. Formează, pe agar cu ser, colonii mici, transparente de culoare cenușie-albăstruie.

PLANŞA I



Diplococcus pneumonia

Frotiu din pulmon de cobai. Coloraţie: Gram (desen: *Cerni*)

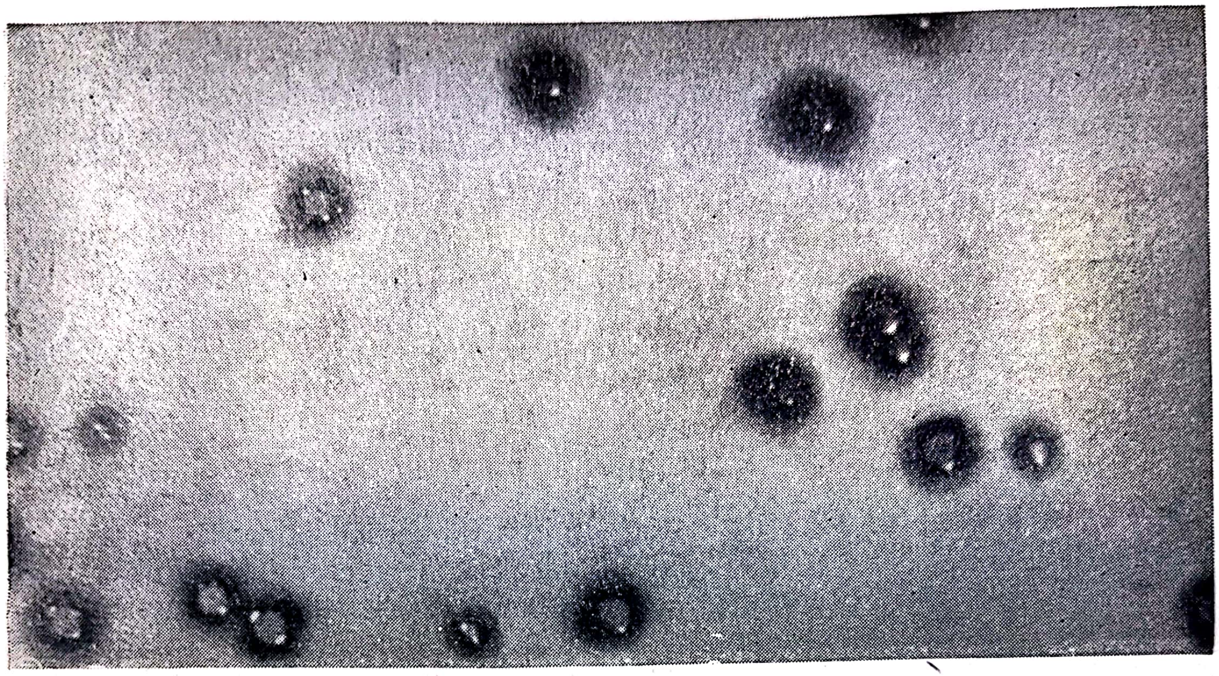


Fig. 12 — Colonii de pneumococi pe agar cu sînge (din Jordan-Burrows, 1950)
Zonele întunecate din jurul coloniilor reprezintă colorarea în verde a mediului — *efect viridans*

Temperatura optimă de dezvoltare este de 37° C. Nu crește la temperaturi mai mici de 18° C.

pH-ul optim este situat în jurul cifrei de 7,8.

Proprietăți biochimice. Pneumococii fermentează lactoza, zaharoza, rafinoza și inulina. Fermentarea inulinei îi deosebește de streptococi. Acidifică și coagulează laptele. Nu lichefiază gelatina. Produce methemoglobina pe mediile cu sînge; mediul din această cauză, se colorează în verde, în jurul coloniei.

Rezistență. Germenul se distruge în 20 de minute la 55° C. Se conservă doar cîteva săptămîni pe medii de cultură și cîteva zile la termostat. Sterilizarea culturilor pare a fi datorită peroxidului de hidrogen care ia naștere în culturi și lipsei catalazei. O conservabilitate mai lungă a pneumococilor se asigură prin înghețare și uscare în vid (liofilizare). Sensibil față de antiseptice, sulfamide și antibiotice ca penicilină, streptomicină, aureomicină etc. Sensibilitatea față de antibiotice variază în limite largi de la o tulpină la alta. Astfel, dozele inhibante de aureomicină pentru 33 de tulpini au variat de la 0,007 la 0,312 gama pe 1 ml în cercetările lui Dowling și colaboratorii (1950).

Pneumococul, spre deosebire de streptococi, este sensibil față de bilă sau sărurile biliare. Astfel, bila de bou sau iepure, adăugată unei culturi în proporție de 10—20%, solubilizează toți germenii.

Liza pare a fi datorită autofermenților, căci culturile omorîte prin căldură nu sînt sensibile față de bilă. Sărurile biliare (taurocolatul de sodiu) produc liză în concentrație de 10%.

Structură antigenică. Pneumococii conţin în soma lor o nucleoproteină, care are caracter de grup (comună unor streptococi şi tuturor pneumococilor), un polizaharid denumit C, cu caracter de specie şi un polizaharid de natură capsulară, numit încă şi S, cu caracter de tip (Dochez şi Avery, 1917, Avery şi Heidelberger, 1923). Pe baza prezenţei acestei din urmă substanţe, pneumococii se împart în mai multe tipuri, I, II, III şi grupa IV. Grupa IV, care iniţial cuprindea pneumococii încă nediferenţiaţi, a fost împărţită, în urma cercetărilor lui Cooper şi colaboratorii (1929, 1932 şi 1935), în 29 de tipuri serologice. Tipurile diferă între ele prin natura substanţei lor capsulare, diferenţă care se pune în evidenţă prin reacţia de seroprecipitare.

PATOGENITATEA

Elementele patogenităţii. Patogenitatea pneumococilor se datoreşte în cea mai mare parte capacităţii invazive a germenului şi într-o mai mică măsură secreţiilor toxice şi agresinice. Dintre secreţiile toxice trebuie amintite unele hemolizine sensibile faţă de oxigen şi antigenice, dar deosebite antigenic de hemolizinele de acelaşi tip, care se găsesc la streptococii patogeni. Hemolizinele concentrate exercită o acţiune dermonecrotică. De asemenea, pneumococii par a secreta, în special in vivo, fibrinolizine, precum şi unele substanţe care inoculate la şoarece produc o colorare albastră-închis a pielii, grăsimii şi organelor genitale etc. Dintre agresine trebuie să amintim leucocidinele, substanţele de origine capsulară care împiedică fagocitoza (Petterson, 1940) şi hialuronidază.

Infecţia experimentală. Pneumococii sînt patogeni în special pentru şoarece şi iepure, mai puţin pentru cobai. Animalul preferat pentru cercetări experimentale este şoarecele. Sensibilitatea acestuia este foarte mare şi cîţiva germeni, inoculaţi pe cale intraperitoneală, produc o infecţie septicemică mortală în 18—48 de ore. Virulenţa tulpinilor, chiar pentru şoarece, variază în limite foarte largi; pe lîngă tulpini foarte virulente se găsesc tulpini total apatogene. Tulpinile izolate din pneumoniile pneumococice umane au, în general, o mare putere patogenă. În ceea ce priveşte tulpinile izolate de la animale ele sînt puţin patogene. Germenii cei mai virulenţi se găsesc în infecţia septicemică şi cu caracter contagios a cobaiului şi iepurelui. Diplococii izolaţi de la tineretul animalelor domestice — purcei, viţei — sînt puţin patogeni sau chiar apatogeni pentru şoarece.

Pneumococii din pneumoniile lobare umane sînt patogeni pentru maimuţe, la care, în urma inoculării intratraheale, se dezvoltă o pneumonie întrutotul asemănătoare celei produse spontan la om. La cîine, se poate reproduce o pneumonie lobară administrînd, tot intratraheal, pneumococii în amestec cu mucină sau soluţii vîscoase de amidon.

Infecţia naturală prezintă o deosebită importanţă la om, la care pneumococul produce o infecţie bine definită clinic şi anatomopatologic, şi anume pneumonia lobară, acută sau crupală. După Rumrich şi colaboratorii (1943), 82,84% din totalul pneumoniilor lobare sînt produse de pneumococ. Pneumonia pneumococică este o boală foarte răspîndită. În

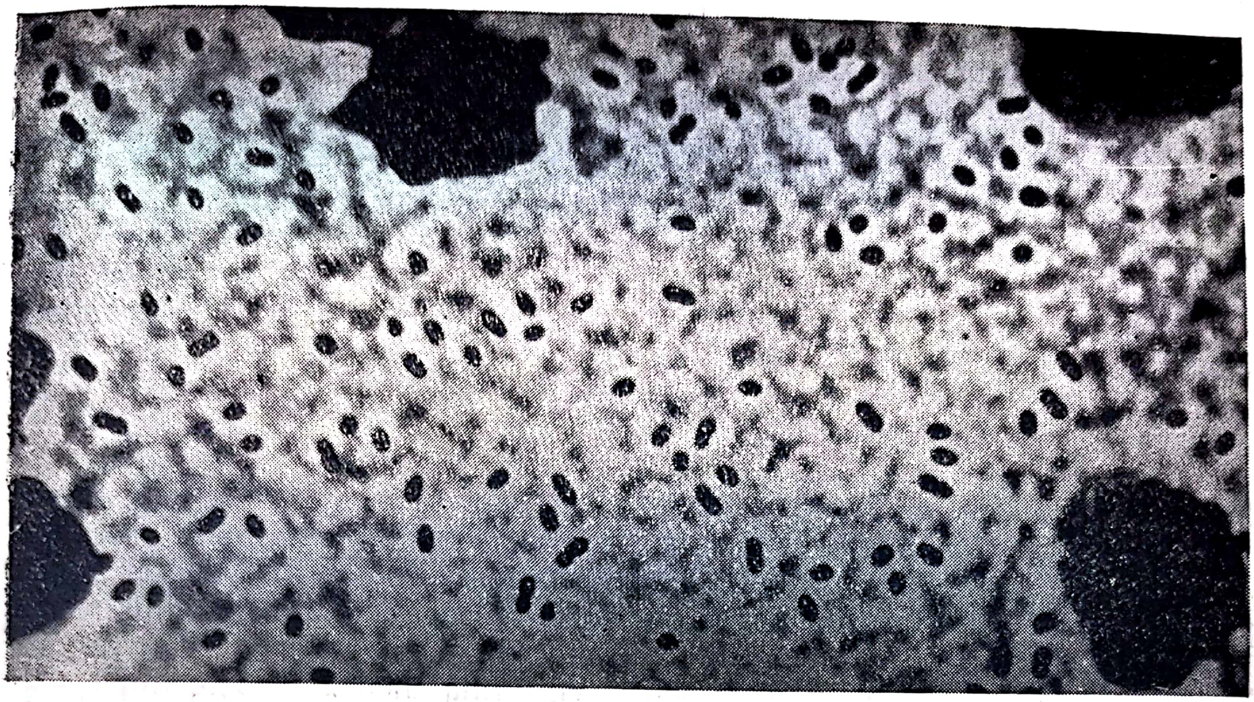


Fig. 13 — Pneumococi capsulaţi în lichidul peritoneal de şoarece; ×2 200 (din Jordan-Burrows, 1950)
Coloraţie : fucsină

1945 în 31 de state din S.U.A., s-au înregistrat 101 811 cazuri, cu 34 421 de cazuri mortale, adică o morbiditate de 124,3 şi o mortalitate de 4,2 pentru 100 000 de locuitori. Pe lîngă pneumonie lobară, pneumococul mai poate provoca diverse alte afecţiuni (bronhopneumonii, bronşite, otite, parotidite, meningite), precum şi septicemii.

Originea infecţiei pneumonice se pare că se găseşte în pneumococii prezenţi în zona nazofaringiană, în special, în amigdalele oamenilor sănătoşi. De aici, în cazul cînd purtătorul prezintă o rezistenţă scăzută produsă prin frig, oboseală, ei ajung în pulmon, pe cale canaliculară sau hematogenă, producînd pneumonia lobară, care uneori este însoţită de bacteriemie. Pneumoniile însoţite de bacteriemie au o evoluţie gravă, cu un procent mare de mortalitate. După Avery şi colaboratorii (1917) citat în Topley şi Wilson, procentul de mortalitate este de 55,8 la pneumococii cu hemoculturi pozitive şi de 8,3%. la cei cu hemoculturi negative. Purtătorii de pneumococi patogeni pot transmite contagiul, dar pneumonia lobară este în general, de o contagiozitate moderată. Infecţia poate fi deci endogenă sau exogenă. Toate tipurile de pneumococi pot produce pneumonie lobară, dar cel mai frecvent se izolează tipurile I, II şi III şi mai rar tipurile făcînd parte din grupa IV.

Clinic, pneumonia pneumococică umană are un debut brusc, cu frison şi febră —40°C sau mai mult. La nivelul alveolelor pulmonare se produce o secreţie abundentă de fibrină, care coagulată, împiedică schimburile respiratorii. Febra durează 7—8 zile, pentru ca la cazurile vindecabile ea să revină brusc la normal in crisis. Scăderea temperaturii şi vindecarea se datoresc apariţiei anticorpilor şi acţiunii acestora asupra germenilor. Pneumonia poate fi urmată de unele complicaţii consecutive localizării pneumococului în alte ţesuturi sau organe (pleurezii, pericardite, endocardite, artrite, meningite, otite, abcese în diverse organe etc.). Există şi septicemii pneumococice care nu au un debut pulmonar, infecţia exogenă sau endogenă generalizîndu-se de la început.

Diagnosticul se face prin examen clinic şi de laborator. Inocularea sputei sau lichidelor patologice la şoarece permite constant izolarea germenului. Diagnosticul tipului, care era foarte important în timpul cînd se foloseau în tratament serurile imune, se face prin proba tumefierii capsulei, metoda Neufeld.

Profilaxie şi tratament. Nu se practică vaccinări în masă dat fiind caracterul sporadic al infecţiei.

Tratamentul infecţiilor umane se face cu sulfamide şi mai ales antibiotice, obţinîndu-se bune rezultate. Aureomicina, după cercetările lui Dowling şi colaboratorii (1950), este superioară penicilinei; procentul de mortalitate printre bolnavii trataţi cu penicilină a fost de 5,2%, iar printre cei trataţi cu aureomicină de 1,5%. Aureomicina se administrează, de regulă, per os, în doză de cîte 500 mg, la 6 ore interval, sau de cîte 250 mg, la 3 ore interval. Tratamentul continuă încă 2—3 zile după scăderea febrei. Bolnavii, care nu suportă aureomicina per os şi prezintă vărsături, sînt injectaţi pe cale intravenoasă cu soluţii de aureomicină.

Infecţii diplococice se întîlnesc şi la animale. Astfel la cobai se produc, frecvent, infecţii pneumococice, avînd caracter enzootic (Cernea, 1932). Boala apare iarna sau primăvara şi se dezvoltă, foarte probabil, în prezenţa unor modificări morfofiziologice datorite carenţelor alimentare. Animalele moarte pot prezenta leziuni septicemice sau pleuropneumonii în diverse faze de evoluţie. Germenul poate produce avorturi la cobăiţe.

La iepuri infecţia este mai rară şi mai puţin gravă. Tineretul acestei specii poate totuşi prezenta infecţii pneumococice, evoluînd septicemic şi avînd caracter enzootic.

La tineretul speciilor domestice — purcei, miei, viţei — s-au descris infecţii diplococice, dar care prezintă, la noi în ţară, un caracter cu totul sporadic. În Orientul Îndepărtat, mortalitatea tineretului animal, ca o consecinţă a infecţiilor diplococice este însă foarte mare. Astfel, după Cepurov (1949), la 41,12% din viţei, 69,72% din miei şi 35,87% din purcei autopsiaţi într-un institut din Siberia s-a stabilit drept cauză a morţii infecţia diplococică. Evoluţia bolii, este în general, rapidă şi cu caracter speticemic.

La viţei, după Cepurov (1949), infecţia diplo-streptococică apare în lunile ianuarie-aprilie. Originea infecţiei o constituie purtătorii adulţi: vaci cu metrite sau mastite. Combaterea infecţiei se face prin măsuri sanitare şi prin vaccinări. Vaccinarea se aplică în crescătoriile în care boala apare regulat şi este supus acestei operaţii tineretul cuprins între 10 şi 90 de zile.

Prevenţia şi tratamentul se pot face cu ser hiperimun precum şi cu sulfamide sau antibiotice.

BIBLIOGRAFIE

AVERY T. și HEIDELBERGER M. — Relațiile imunologice ale diferiților constituenți celulari ai pneumococului, *J. Exp. Med.* 1923, 38, p. 73.

CEPUROV P. K. Infecția diplococică la animale, *Veterinaria,* 1949, nr. 1 p. 11.

CERNEA ION — Cercetări asupra asociației microbiene de pasteurele și pneumococ, *Teză Fac. Med. Vet. Buc.* 1932.

DOCHEZ R. și AVERY T. — Elaborarea substanței specifice solubile de către pneumococi în cursul dezvoltării lor, *J. exp. Med.,* 1917, 26, p. 477.

DOWLING F. H. și col. — Tratamentul pneumoniei pneumococice cu aureomicină, *J. Lab a. Cl. Medicine,* 1950, 35, p. 215.

GAMALEIA N. — Etiologia pneumoniei fibrinoase a omului, *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, p. 387.

PETTERSON A. — Modul de acțiune a polizaharidului pneumococic în infecție și anticorpul său în imunitate, *Z. f. Imunitätsf,* 1940, 99, p. 142.

Diplococcus pluton Bergey et al, 1925

Morfologie. Germen rotund sau alungit; diametrul său măsoară, în medie, 1 micron. Gram pozitiv, nesporulat și aciliat.

Caractere de cultură. Nu se poate cultiva pe medii artificiale.

Habitat și rezistență. Incriminat ca agent principal al locei europene a larvelor de albină. Se conservă în larvele uscate de albină pînă la 1 an. Rezistă 1—2 săptămîni în materii organice intrate în putrefacție. Sensibil la razele solare și antiseptice.

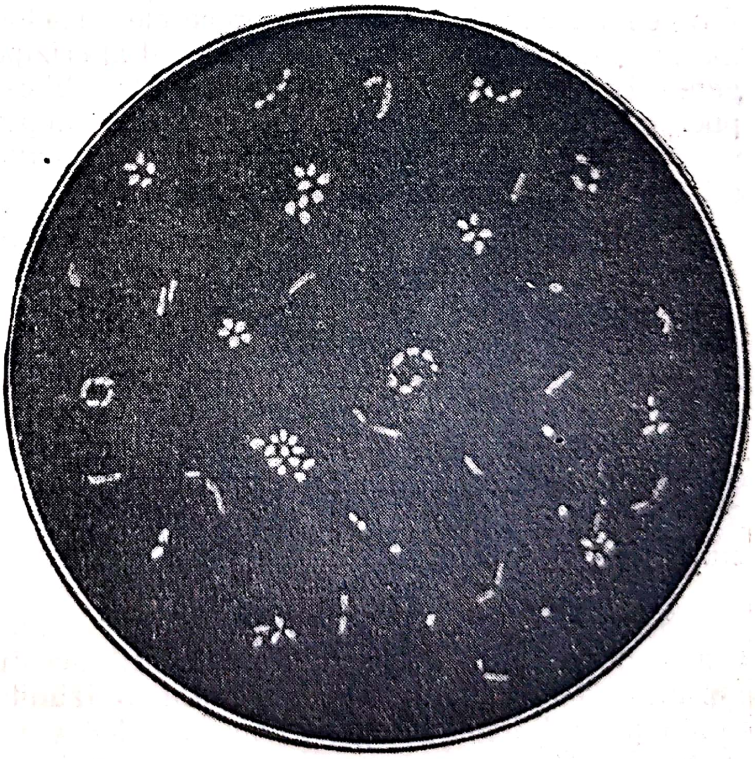


Fig. 11 — Diplococcus pluton și *Bacillus alvei*
Frotiu din larve moarte de locă europeană

BIBLIOGRAFIE

BEGNESCU F. — Maladia albinelor: Loca, *Marvan,* București 1936.

TOȘKOV L. A. — Biologhia i bolesti na pcelite, *Zemisdat,* Sofia, 1955.

Genul *Streptococcus* Billroth, 1874

Streptococcus pyogenes Rosenbach, 1882

Germenii rotunzi sau ovali, Gram pozitivi, grupaţi în lanţuri de lungimi variabile şi numiţi, pentru acest din urmă motiv, de Billroth, streptococi, sînt foarte răspîndiţi în natură. Ei pot fi izolaţi din aer, de pe piele sau mucoasele omului şi animalelor, din conţinutul intestinal, din diverse alimente ca lapte, brînză, unt, precum şi din procesele morbide, cu cele mai variate aspecte clinice. Billroth, în 1874, face primele cercetări asupra streptococilor. El îi izolează din infecţiile erizipelatoase umane într-o proporţie de 50%. Autorul nu distinge streptococii de stafilococi şi nu stabileşte o legătură între erizipel şi germenii dispuşi în lanţuri, pe care i-a izolat din această infecţie. Ogston, într-o serie de lucrări publicate între anii 1880 şi 1883, constată că streptococii izolaţi din erizipelul uman sînt patogeni pentru animalele de experienţă şi conchide că infecţia este de natură streptococică. Paralel cu cercetările privind etiologia erizipelului uman, se fac observaţii privind etiologia febrei puerperale. Astfel, Koch (1878), inoculînd la şoarece sînge hemolizat, dintr-un caz de febră puerperală umană, provoacă moartea animalului şi constată, în organele sale, prezenţa germenilor aşezaţi în lanţuri, deci a streptococilor. Pasteur, pe baza unor observaţii proprii, afirmă de asemenea în 1879, că streptococii au un rol important în producerea febrei puerperale. În 1884, Rosenbach izolează din procesele purulente un streptococ, pe care încearcă să-l distingă de agentul cauzal al erizipelului şi îl numeşte *Str. pyogenes*. In fine, cercetările ulterioare au dovedit că numeroase infecţii, ca febra puerperală, endocardita lentă, scarlatina, angina, gurma calului, mastita vacilor, precum şi numeroase procese purulente ca sinuzite, otite, limfangite etc. pot fi de natură streptococică.

CARACTERELE GENERALE ALE STREPTOCOCILOR

Streptococii, indiferent de originea lor, de locul de unde au fost izolaţi, au o serie de caractere morfologice, culturale şi biologice comune, pe baza cărora ei sînt grupaţi într-un singur gen.

Caractere morfologice. Ei sînt germeni polimorfi, de formă rotundă sau ovală. Polimorfismul este mai accentuat la unele tulpini ca la altele. Streptococii din intestin ca şi cei socotiţi ca agenţi ai reumatismului uman sînt mai polimorfi ca cei izolaţi din erizipel sau gurmă.

Dimensiunile lor variază de la 0,6 la 1 micron.

Streptococii se divid într-un singur plan şi într-o singură direcţie. Constituirea lanţurilor se datoreşte atît acestui mod de diviziune cît şi faptului că elementele, rezultate din diviziune, nu se separă complet, ci rămîn parţial legate. Lungimea lanţurilor variază de la o specie la alta şi, în cadrul aceleiaşi specii, de la o tulpină la alta, iar pentru aceeaşi tulpină de la un mediu de cultură la altul. Streptococul gurmei formează lanţuri lungi, iar enterococii (streptococii izolaţi din intestin), lanţuri

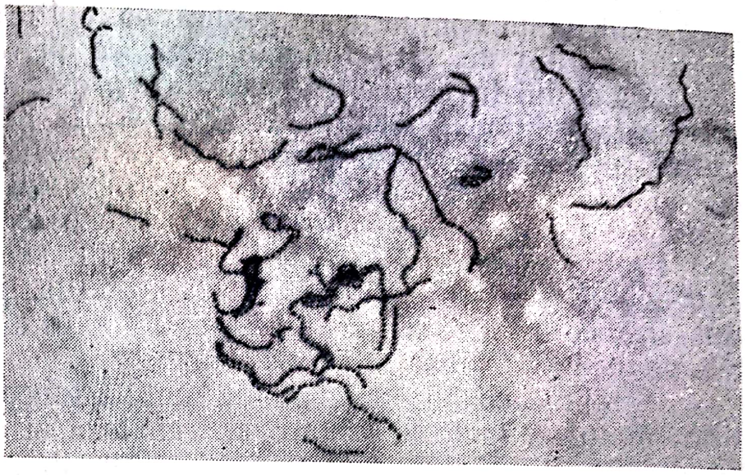


Fig. 15 — Streptococcus equi
Frotiu din bulion cu ser. Colorație: Gram

scurte. De altfel, chiar unele tulpini izolate din puroiul gurmos au cocii grupați în lanțuri scurte. Aceeași tulpină de streptococ gurmos formează lanțuri mai lungi în bulion ca pe agar. În puroi, și mai ales în organismul animalelor infectate experimental, lanțurile sînt mai scurte ca în bulion. Mediile lichide acide favorizează formarea lanțurilor lungi. Tulpinile ale căror germeni se grupează în lanțuri lungi, în momentul izolării, pot pierde acest caracter prin treceri repetate pe medii artificiale.

Streptococii nu sporulează.

Nu au cili și sînt deci imobili (există extrem de rare tulpini ciliate).

Cele mai multe specii nu formează capsulă ; există însă și specii sau variante capsulate.

Se colorează cu culorile bazice de anilină.

Sînt Gram pozitivi.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe medii uzuale, dar cele mai multe specii patogene sînt serofile. Preferă mediile ușor alcaline, pH = 7,4, dar se pot dezvolta și în cele ușor acide, pH = 6,3 sau alcaline, pH = 8,5. Unele grupe de streptococi suportă o alcalinitate însemnată. Temperatura optimă este de 35—37°C. În general, nu se dezvoltă sub 10°C și nici la o temperatură mai mare de 42—43°C. Există specii facultativ aerobe și specii anaerobe.

Cultura este bine vizibilă după o incubație de 24 de ore la 37°C.

Aspectul cultural este variabil. În mediile lichide, tulpinile ale căror elemente formează lanțuri lungi dau un depozit de regulă, foarte abundent, restul mediului fiind limpede ; cu cît lanțurile sînt mai lungi, cu atît depozitul este mai consistent, mai greu de omogenizat, iar lichidul mai limpede. Germenii dispuși în lanțuri scurte sînt dispersați uniform. Caracterul cultural pe mediile lichide se modifică deci în raport cu modul de grupare a elementelor celulare.

Pe mediile solide, streptococii formează colonii de obicei de dimensiuni reduse, 1 mm sau chiar mai puțin. Unele tulpini pot forma și colonii de dimensiuni mai mari. Streptococul mucos constituie, de exemplu, colonii mari, 2—3 mm în diametru, avînd suprafața netedă, lucioasă.

Proprietăți biochimice. Streptococii sînt zaharolitici. Ei scindează unele zaharuri, din mediu, în proporție medie de 75%, dar, de regulă, nu toată substanța conținută de mediul de cultură. Angelescu și colaboratorii, 1951 au arătat că în ceea ce privește glucoza, aceasta adăugată mediului în concentrație de 0,2%, este total dezintegrată de streptococii hemolitici în decurs de 24 de ore la 37°C. Filtratul unei asemenea culturi este inapt să mai cultive streptococii, chiar dacă i se corectează pH-ul. Devine însă apt dacă i se adaugă glucoză, ceea ce înseamnă că acest zahar are un rol esențial în metabolismul germenului.

Produșii principali care rezultă din scindarea diverselor zaharuri sînt acidul lactic și unii acizi grași, volatili. Bioxidul de carbon este produs, în mediu cu zaharuri fermentescibile, în cantități mici, de aceea culturile pe medii cu zahăr nu sînt gazogene.

Streptococii fermentează, de regulă, glucoza, manoza, fructoza, galactoza, maltoza, lactoza, zaharoza, trehaloza și salicina și sînt inactivi față de dulcită, arabinoză, xiloză, eritrită, inulină și adonită. Activitatea fermentativă a streptococilor, față de diversele substanțe hidrocarbonate, prezintă însemnate variații. Glucoza se pare că este fermentată totdeauna și de toți streptococii.

Streptococii nu sînt proteolitici activi. În general, ei nu lichefiază gelatina și cazeina. O oarecare activitate proteolitică există, însă ea nu poate fi pusă în evidență prin metodele uzuale. Secretă în mediile lichide o dezoxiribonuclează (Ionescu-Mihăești și col., 1950), iar în corpii microbieni se găsesc fermenți lipolitici (lipaze) (vezi Dîmboviceanu și Veiner, 1950). Sinteza ambilor fermenți este parțial inhibată în prezența sulfatiazolului.

Rezistența față de temperaturi ridicate variază în raport cu originea tulpinilor cercetate. Toate tulpinile sînt însă omorîte printr-o încălzire de 30 de minute la 70°C. În medii de cultură — bulion cu ser — streptococii se conservă cel puțin 1 lună la temperatura de 4°C.

Streptococii sînt sensibili față de antibiotice. Penicilina, de exemplu, inhibă dezvoltarea lor în concentrație de 0,02—0,2 U.I. pe 1 ml. Se pot obține variante rezistente. Faber și colaboratorii (1955) observă că o tulpină a devenit de patru ori mai rezistentă după 70 de treceri în medii penicilinate. Penicilinorezistența streptococilor este mult mai redusă ca a stafilococilor.

Sensibil in vitro și in vivo față de sulfamide, așa cum rezultă din cercetările a numeroși cercetători. Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1949) constată, de exemplu, că în medii cu o concentrație de 500 mg de sulfatiazol pe 1 ml cantitatea de cultură obținută este mai mică (50%) în raport cu cantitatea de germeni separați dintr-un mediu fără sulfatiazol.

Sensibil față de substanțele dezinfectante. Formolul este inactivant pentru o cultură în bulion - ser în doză de 0,2 ml pentru 100 ml.

Structura antigenică prezintă variații importante. Toți streptococii conțin un antigen de natură nucleoproteinică; această substanță pare a fi prezentă nu numai la streptococi, dar și la pneumococi și chiar și la alți coci. La streptococi, antigenul nucleoproteinic este legat cu un complex chimic, care poate avea o specificitate de tip. Astfel se comportă albumina (substanța M) identificată de Lancefield (1825) la streptococii hemolitici izolaţi de la om, precum şi substanţa hidrocarbonată găsită la streptococii de tip *viridans* sau la streptococul mastitei vacilor (substanţa S).

Capacitatea patogenetică variază de la o specie la alta. Sînt specii patogene, puţin patogene, precum şi specii saprofite, lipsite total de patogenitale. Variaţii însemnate de virulenţă se întîlnesc şi în cadrul aceleiaşi specii. Se observă nu numai pierderi de virulenţă, dar, adeseori, streptococii puţin patogeni îşi exaltează, în condiţii încă incomplet precizate, virulenţa. Asemenea exaltări se obţin, de regulă, prin treceri în serie pe animale.

Relaţiile dintre streptococii izolaţi din diverse procese patologice

Ce relaţii există între tulpinile de streptococ izolate din natură sau din diversele procese morbide de la om sau de la animale? Diversele aspecte clinice ale infecţiilor streptococice sînt datorite proprietăţilor agentului etiologic sau condiţiilor în care s-a instalat şi a evoluat infecţia? Cu alte cuvinte, un anumit streptococ produce numai un tip de infecţie sau este capabil să provoace infecţii variate în raport cu poarta de intrare, cu rezistenţa gazdei etc.? În sistematica lui Bergey găsim o serie de specii al căror epitet se inspiră din numele infecţiei pe care o produc: *Str. puerperalis*, *Str. epidemicus*, *Str. scarlatinae*, *Str. pyogenes*, *Str. equi*, *Str. equinus*, *Str. mastitidis* etc., ceea ce ar însemna că aspectul infecţiei este în legătură cu tipul sau specia de streptococ infectant. Cercetările experimentale nu confirmă însă în totul acest punct de vedere. Numeroşi cercetători au putut, de exemplu, reproduce angina cu streptococi izolaţi din scarlatină sau din erizipel. Un streptococ care a produs angină la un om poate provoca febră puerperală la un alt om. Aspectul clinic deci nu este în funcţie de tulpină, de caracterele ei, ci de o serie de alţi factori şi, în special, de poarta de intrare şi de rezistenţa gazdei. Din punct de vedere medical şi epidemiologic, o nouă clasificare care să evite confuziile era deci necesară. Găsirea unor criterii de diferenţiere între streptococii de diverse orgini era necesară şi pentru lămurirea unor probleme de epidemiologie, privind mai cu seamă transmiterea infecţiilor streptococice de la animale la om şi invers. Animalele şi, mai ales, alimentele de origine animală, ca laptele, pot conţine streptococi hemolitici, deci patogeni. Pot aceşti streptococi fi orginea unei infecţii umane? Această problemă nu putea fi lămurită în absenţa unor metode de tipizare prezentînd suficiente garanţii de precizie. Multiplicitatea speciilor de streptococi, ca şi multiplicitatea infecţiilor pe care ei le produc au determinat pe cercetători să caute metode care să le permită să se orienteze înăuntrul acestui gen aşa de vast şi aşa de complex. Aceste încercări au dus la unele rezultate şi cu ajutorul lor se poate preciza dacă un streptococ este patogen sau nu, dacă produce mastita la vaci sau gurma la cal, dacă aparţine grupei de streptococi patogeni numai pentru om sau pentru animale sau şi pentru animale şi pentru om.

Principalele criterii de diferenţiere a streptococilor

Tulpinile de streptococ, în vederea clasificării lor, sînt examinate din următoarele puncte de vedere:

activitate hemolitică;
proprietăţi biochimice;
structură antigenică.

Activitatea hemolitică. Activitatea hemolitică a streptococilor patogeni a fost observată întîi in vivo, în infecţiile streptococice, şi apoi in vitro. In vitro, Besredka (1901) observă că o picătură dintr-o cultură de streptococ produce hemoliza unei suspensii de globule roşii în apă fiziologică. În 1903, Schottmüller introduce în bacteriologie agarul cu sînge şi foloseşte acest mediu pentru a cultiva şi cerceta activitatea hemolitică a tulpinilor de streptococi de diverse origini. Această cercetare îi permite să distingă, printre streptococii examinaţi, două grupe principale, şi anume: 1) o primă categorie de streptococi produce, în dreptul şi în jurul coloniei pe care o formează pe agarul cu sînge de cal, o zonă de hemoliză însoţită de decolorarea mediului şi 2) o a doua categorie produce, pe acelaşi mediu o înverzire a mediului în dreptul şi în jurul coloniei, înverzire cunoscută sub numele de efect *viridans*. Brown (1919), reluînd aceste cercetări, descoperă o a treia grupă de streptococi, care nu produc nici hemoliza, nici efect *viridans* şi care deci sînt lipsiţi de orice activitate asupra globulelor roşii. În urma acestor cercetări, streptococii au fost împărţiţi, pe baza modului lor de comportare faţă de hematiile de cal, în trei grupe sau trei tipuri.

1. Tipul hemolitic alfa cuprinde streptococii producători de efect *viridans;* aceşti streptococi îşi au habitatul obişnuit în partea superioară a tubului digestiv la om şi sînt puţin patogeni sau total lipsiţi de patogenitate pentru animalele de laborator. Ei sînt consideraţi ca fiind agenţii cauzali ai reumatismului, endocarditelor, infecţiilor dentare ale omului etc.

2. Tipul hemolitic beta cuprinde streptococii care produc decolorarea agarului cu sînge. Decolorarea este datorită atît hemolizei, adică difuziunii hemoglobinei din globulele roşii, cît şi hemodigestiei, adică digerării hemoglobinei difuzate. Principiul hemolizant se găseşte şi în filtratul culturilor de streptococi hemolitici. Există o strînsă legătură între prezenţa hemolizinelor filtrabile şi patogenitatea unei tulpini de streptococi, în sensul că toate tulpinile patogene dau filtrate hemolizante.

3. Tipul anhemolitic, numit şi tipul gama, cuprinde streptococii fără acţiune asupra globulelor roşii. Ei sînt, de regulă, lipsiţi de patogenitate atît în condiţii experimentale cît şi naturale. Se găsesc în intestin şi în unele alimente ca lapte, brînză. Pot fi aerobi facultativi sau anaerobi stricţi.

Diferenţierea între aceste trei tipuri se face prin cultivarea pe agar cu sînge de cal, în plăci Petri. Mediul se prepară adăugînd, la agarul obişnuit, lichefiat şi răcit la 45—50°C, sînge defibrinat de bou, oaie, iepure sau cal, în proporţie de 5%. Însămînţarea se face în suprafaţă. Citirea se face după 24 de ore la 37°C. Tulpinile aparţinînd tipului hemolitic beta produc o zonă de decolorare a mediului mai mică sau mai mare. În această zonă nu se mai găsesc, aşa cum se poate constata printr-un examen microscopic, globule roşii întregi. Tulpinile aparţinînd tipului alfa formează pe agar cu sînge colonii care, după o incubaţie de 24 de ore, sînt înconjurate de o zonă subţire de culoare verzuie. Se observă că această zonă se clarifică, efectul *viridans* transformîndu-se într-o hemoliză adevărată, dacă placa este pusă, pentru

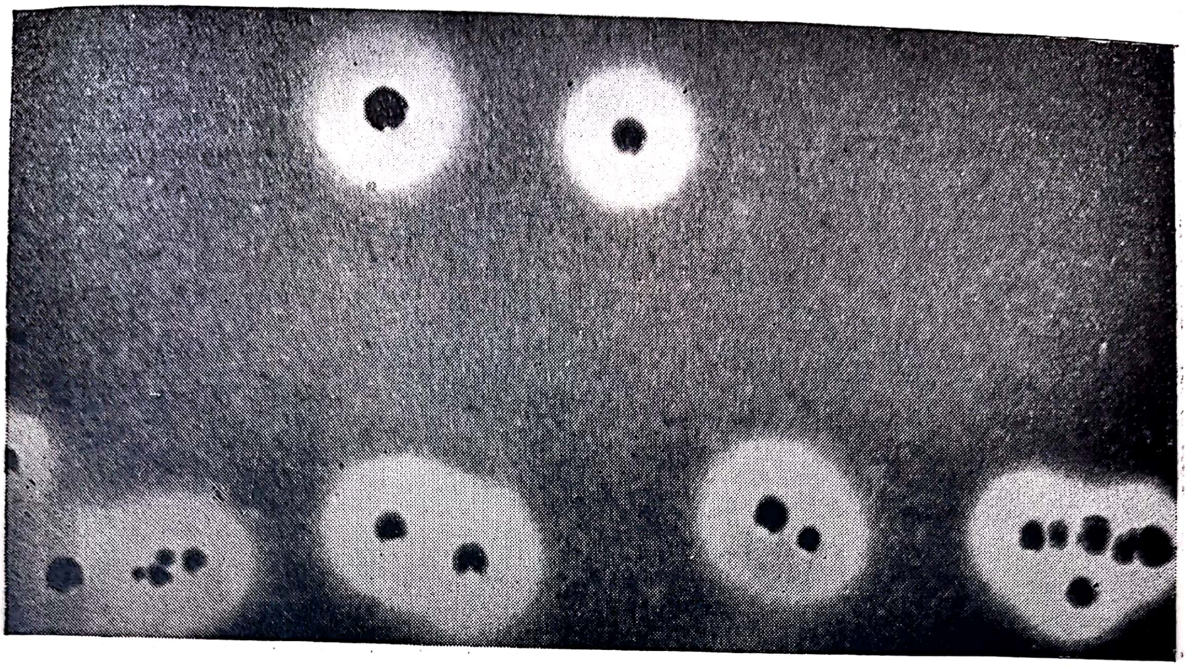


Fig. 16 — Colonii de *Streptococcus pyogenes* pe agar cu sînge; × 5 (din Jordan-Burrows, 1950)
Se observă hemoliza beta

24 de ore, la gheţar. Trecînd placa din nou la termostat, zona hemolitică se înconjoară de o nouă zonă verzuie, care poate deveni hemolitică dacă placa este pusă din nou, pentru 24 de ore, la gheţar.

Caracterul alfa sau beta al hemolizei streptococice este condiţionat de factori de mediu. În acest sens s-a arătat că streptococii hemolitici produc efect *viridans* dacă sînt cultivaţi pe un agar cu sînge, care conţine 0,08% glucoză, în loc de 0,02%. Pe de altă parte, se constată că streptococii care produc efect *viridans* în condiţiile amintite mai sus dau o hemoliză completă de tip beta, dacă sînt cultivaţi în anaerobioză şi la temperatură scăzută.

Efectul *viridans* se datoreşte formării în mediu a unui produs de oxidare a hemoglobinei, apropiat de methemoglobină. Această oxidare se produce sub influenţa acizilor (acidul lactic) şi peroxidului de H (H_2O_2), substanţe care iau naştere în cursul dezvoltării acestor streptococi.

Proba activităţii hemolizante a unei tulpini se poate face şi în următoarele condiţii: se amestecă, în părţi egale, 0,5 ml de cultură în bulion-ser de 15 ore la 37°C, cu 0,5 ml de suspensie 5% de globule roşii de bou; amestecul se ţine 90 de minute la 37°C. Tulpinile care secretă hemolizine filtrabile, deci aparţin tipului beta, hemolizează, în acest interval de timp, globulele roşii. În acest fel se poate face şi o titrare a puterii hemolitice. În acest scop, pentru tulpinile de streptococi gurmoşi se amestecă cantităţi descrescînde de cultură — 0,5, 0,1, 0,01, 0,001 etc. — cu un volum egal (1 ml) de globule roşii, suspensie 5% : citirea se face după 2 ore la 37° C şi 12 ore la temperatura camerei.

Proprietăţi biochimice. În vederea determinării speciei sau tipului unei tulpini de streptococ, se cercetează proprietăţile culturale şi biochimice pe diverse medii.

1. *Medii obișnuite: bulion și agar.* Bulionul este recomandabil să fie preparat din carne de cal și să i se adauge 0,3% clorură de sodiu, 0,3% fosfat de sodiu și 1% peptonă Witte. pH=7,4.

2. *Lapte cu tinctură de turnesol.* Mediul se prepară adăugînd laptelui fiert, răcit și trecut printr-un tifon, tinctură de turnesol în proporție de 2,5%. Sterilizarea se face prin încălzirea la 100°C, 3 zile consecutiv, cîte ½ oră în fiecare zi. Însămînțarea se face după controlul sterilității.

3. *Lapte cu albastru de metilen în proporție de 1/1 000 și 1/20 000.* Laptele curat și neecremat se distribuie în tuburi, cîte 9 ml în fiecare tub. Mediul se sterilizează ca și precedentul. Se adaugă apoi, în fiecare tub, cîte 1 ml de soluție apoasă 1% (pentru soluție 1/1 000) și 0,05% (pentru soluție 1/20 000) albastru de metilen sterilizat în aceleași condiții ca și laptele. Se controlează sterilitatea și apoi mediul se poate însămînța.

4. *Bulion cu diverse substanțe hidrocarbonate.* Bulionul are următoarea compoziție:

extract de carne	10 g
peptonă	10 g
clorură de sodiu	3 g
fosfat de sodiu	3 g
apă distilată	1 000 ml

pH-ul se ajustează la 7,4. Mediului, gata preparat, i se adaugă substanță hidrocarbonată în proporție de 0,5—1%, tinctură de turnesol 3% și apoi se distribuie în tuburi, se sterilizează 3 zile consecutiv, cîte ½ oră la 100°C (autoclav fără presiune).

Pentru diferențierea streptococilor se folosesc, în mod obișnuit, următoarele substanțe hidrocarbonate: glicerină, sorbită, trehaloză, manită, salicină, zaharoză, inulină și rafinoză. Primele trei substanțe prezintă o importanță deosebită. În bulion cu lactoză se cercetează, după o incubație de 10 zile, pH-ul final, constatîndu-se diferențe care pot fi folosite la determinarea speciei streptococilor cercetați.

5. *Bulion cu esculină.* Bulionului, preparat ca mai sus, i se adaugă esculină în proporție de 0,1%. Sterilizarea se face 2 zile consecutiv, cîte ½ oră în fiecare zi, la temperatura de 100°C. Mediul preparat prezintă o fluorescență albăstruie; în urma dezvoltării streptococilor care descompun esculina mediul pierde fluorescența și devine de culoare galbenă intens. Descompunerea glicozidului se poate pune în evidență adăugînd, unei culturi de 3—4 zile, 1 ml dintr-o soluție 7% de triclorură de fier (Fe_2Cl_3); se constituie, în cazul reacției pozitive, un precipitat negru-verzui, iar în cazul reacției negative un precipitat galben-gri. Se pot întîlni însă și culori intermediare între cele două semnalate, ceea ce îngreuiază interpretarea reacției.

6. *Bulion peptonat, pentru punerea în evidență a amoniacului.* Bulionul se prepară din extract de carne, i se adaugă 4% peptonă și i se ajustează concentrația de ioni de hidrogen la un pH = 7,4. Pentru a pune în evidență prezența amoniacului, se procedează astfel: 0,2 ml de cultură de 3—4 zile se amestecă cu 3 ml de apă distilată, 1 ml de soluție de fenol 4% și 1 ml de soluție de hipoclorit. Această din urmă soluție se prepară astfel: se amestecă, pe de o parte 20 părți de soluție 33% de clorură de var cu 100 părți

de apă distilată, iar pe de altă parte, se dizolvă 15 părţi de carbonat de potasiu în 100 părţi de apă distilată ; cele două soluţii se amestecă şi se filtrează. În cazul cînd în cultura folosită există amoniac, amestecul făcut ca mai sus se colorează în 10—15 minute în albastru-verzui. Pentru ca reacţia să fie valabilă este necesar ca mediul de cultură, cît şi reactivii să fie controlaţi în privinţa prezenţei amoniacului.

7. *Mediul cu hipurat de sodiu.* Mediul are următoarea compoziţie :

extract sau zeamă de carne	1 000 ml
peptonă	10 g
fosfat bibazic de potasiu	1,5 g
hipurat de sodiu	10 g
glucoză	2 g

Mediul trebuie să aibă pH=7,2. Se sterilizează prin două încălziri succesive, la 100°C, cîte $^1/_2$ oră, la 24 de ore interval. Unii streptococi dedublează acidul hipuric în glicocol şi acid benzoic. Acesta din urmă poate fi pus în evidenţă adăugînd, la 2 ml de cultură 0,5 ml dintr-o soluţie de 50% de acid sulfuric ; se constituie, cînd acidul benzoic este prezent în amestec, un precipitat cristalin. Acidul hipuric nedescompus nu precipită în prezenţa acidului sulfuric.

8. *Gelatina* se prepară adăugînd bulionului din carne de cal gelatină în proporţie de 15%. Amestecul se lasă la rece 1—2 ore şi apoi se încălzeşte la 100°C timp de 20—30 de minute. Se corectează pH-ul la 7,4. Se răceşte la 50—60°C, se adaugă albumină pentru clarificare (albuş de ou), se precipită prin fierbere, se filtrează prin vată şi se sterilizează prin trei încălziri succesive la 100°C.

9. *Agar cu sînge şi bilă.* La agarul cu sînge, preparat în mod obişnuit, se adaugă bilă de bou în proporţie de 10% sau 40%. Bila se recoltează în mod aseptic, dar se sterilizează, totuşi, prin trei încălziri succesive la 100°C.

10. *Agar cu sare.* Agarului obişnuit i se adaugă sare în proporţie de 6,5%. Soluţia de sare se sterilizează separat şi se adaugă mediului sub formă de soluţie.

11. *Bulionul alcalin* este mediul obişnuit căruia i se ajustează pH la valoarea de 9,6.

Structura antigenică. Diverşi cercetători au izolat, dintr-o serie de bacterii ca stafilococi, streptococi, bacilul tuberculozei etc., o nucleoproteină cunoscută sub numele de antigen rezidual, care dă reacţii specifice de precipitare cu serurile respective, preparate pe iepure. În 1923, Avery şi Heidelberger constată că pneumococii conţin, pe lîngă antigenul rezidual de natură nucleoproteinică, şi o substanţă de natură hidrocarbonată, care diferă de la un tip la altul.

În 1925, Rebecca Lancefield aplică, în studiul streptococilor, metodele serologice folosite pentru tipizarea pneumococilor. Autoarea, prin hidroliza antigenului rezidual nucleoproteinic, numit încă şi antigen P, obţine de la unii streptococi o proteină, de la alţii o substanţă hidrocarbonată. Substanţa hidrocarbonată, izolată de la streptococii de tip *viridans,* are o specificitate de tip, iar cea găsită la streptococii hemolitici, precum şi la unii streptococi nehemolitici o specificitate de grupă. Substanţa hidrocarbonată, cu specificitate de grupă numită încă și substanța C, prezintă o deosebită importanță, pentru că ea permite o grupare a streptococilor după structura lor antigenică. Antigenul se extrage pe cale chimică și el se identifică prin seroprecipitare cu un ser preparat pe iepure și avînd specificitate de grupă. De la unii streptococi Lancefield izolează o haptenă proteinică, desemnată cu litera M și care are specificitate de tip, prezența ei permițînd clasificarea streptococilor scarlatinei în mai multe tipuri. Substanța M a fost găsită la streptococii scarlatinei, dar și la cei ai gurmei. Substanța M a celor două specii este diferită (Bălteanu și Agapi, 1933). Printre streptococii izolați din reumatismul poliarticular acut, Coburn și Pauli au identificat cinci tipuri diferite din punct de vedere al naturii substanței M.

Extragerea antigenului. Lancefield (1933) folosește următorul procedeu: sedimentul bacterian, provenind din centrifugarea a 250 ml de cultură în bulion de 18 ore, se ia în 5 ml de apă fiziologică cu o concentrație n/20 de acid clorhidric; practic se adaugă atît acid clorhidric cît este necesar pentru a înălbăstri hîrtia cu roșu de Congo; tubul cu suspensia bacteriană se fierbe în apă timp de 10 minute, se răcește la un curent de apă și apoi se centrifughează; lichidul rezultat se neutralizează, precipitatul, format după neutralizare, se elimină și lichidul clar rămas se poate folosi pentru proba precipitării.

Serul precipitant se prepară, în mod obișnuit, pe iepure. Antigenul este constituit dintr-o cultură tînără de bulion glucozat omorîtă prin formol. Culturile în bulion se pot inocula ca atare sau germenii se separă din cultură prin centrifugare și depozitul se reia în apă fiziologică. Se poate proceda astfel: se centrifughează 500 ml de cultură în bulion glucozat 1%, veche de 18 ore; depozitul este spălat de două ori cu apă fiziologică și apoi pus în suspensie în 100 ml de apă fiziologică. Se adaugă 0,2 ml de formol și suspensia este ținută la ghețar timp de 3—4 zile. În acest interval de timp streptococii mor și suspensia poate fi inoculată. Inoculările se fac pe cale intravenoasă, în doză de 1 ml zilnic, timp de 6 zile. Urmează o perioadă de repaus de 1 săptămînă și apoi se inoculează din nou, 6 zile la rînd, cîte 1 ml de suspensie. După o nouă perioadă de repaus de 1 săptămînă, se face o nouă serie de șase inoculări. Sîngerarea se face prin puncția cordului; prima la 6 zile după ultima inoculare; sîngerările se repetă apoi din 10 în 10 zile, pînă ce titrul serului scade.

Serurile precipitante, astfel obținute, trebuie să fie controlate în ceea ce privește specificitatea lor față de tulpini cunoscute. Se constată, în această privință, că nu toți iepurii și nu toate tulpinile sînt egal de apte pentru a da un ser precipitant specific. Metoda adsorbției nu poate fi aplicată în purificarea serurilor nespecifice.

Valoarea precipitantă a serurilor se conservă cel puțin 6 luni. Serurile tulburi pot fi clarificate prin centrifugare. Li se poate adăuga și un antiseptic, 0,1 % chinzol.

Precipitarea se face în tuburi mici și înguste, pentru a folosi cît mai puțin ser și antigen. Se pune întîi serul pe fundul tubului și deasupra serului se pune, cu atenție, un volum egal de antigen. Inelul de precipitare se formează, în cazul unei reacții pozitive, la suprafața de separare a celor două lichide. Lancefield recomandă ca o primă citire să se facă după 10—30 de minute la temperatura camerei, a doua după 2 ore la 37°C și a treia după o noapte la gheţar. Autoarea mai recomandă ca dintr-un extract, provenind dintr-o tulpină necunoscută, să se facă, pentru un singur ser, trei tuburi, respectiv cîte 0,4, 0,1 și 0,025 ml de antigen ; se completează, în fiecare tub, volumul la 0,4 ml. Se face și un tub-martor numai cu 0,4 ml de apă fiziologică și peste diversele diluţii de antigen cum și peste apa fiziologică din tubul-martor se pune, în fiecare tub, 0,2 ml de ser precipitant.

Lancefield, aplicînd această tehnică la examinarea tulpinilor de streptococ de diverse origini, identifică, printre aceste tulpini, inițial, patru grupe, pe care le denumește A, B, C și D, iar, mai tîrziu încă trei grupe. Seelmann și Nottbohm (1940) găsesc că streptococii, care produc acidifierea și coagularea spontană a laptelui, nu sînt identici cu streptococii grupei D (enterococii) ci au o structură antigenică proprie, creînd pentru *Streptococcus acidi lactici*, o nouă grupă numită L. În total, pe baza examenului serologic, s-au creat, în cadrul genului *Streptococcus*, pînă în prezent, mai mult de 10 grupe : A, B, C, D, E, F, G, H, L, M, N. Aceste grupe nu cuprind însă toţi streptococii. Unii din ei cum sînt cei de tip *viridans*, rămîn în afara acestei grupări, deoarece nu posedă un antigen polizaharidic de grupă. De asemenea unii streptococi din grupa B, izolaţi de la bovine, nu conţin polizaharidul de grupă și nu pot fi tipizaţi pe această bază (Pattison și col., 1955).

Grupele serologice ar fi fără importanţă dacă între streptococii unei grupe nu ar exista și alte afinităţi decît cele de natură antigenică. Prezenţa aceleiași substanţe hidrocarbonate în structura cocului este însă în legătură cu alte proprietăţi ale germenului sau, cu alte cuvinte, streptococii aceleiași grupe nu au comun numai polizaharidul izolat pe cale chimică și care, din punct de vedere antigenic, se comportă, pentru animalele de experienţă, ca o haptenă, ci și o serie de proprietăţi biochimice și de patogenitate. Astfel, streptococii grupei A se izolează, în marea lor majoritate, din procese patologice umane sau de la purtătorii umani și numai rareori de la purtătorii animali. Streptococii din grupa B se izolează, de regulă, din mastita acută sau cronică a vacilor și numai uneori de la om (Pattison și col. 1955), cei din grupa C din procese patologice de la animale și numai uneori de la om, cei din grupa D își au sediul obișnuit în intestin și se identifică cu enterococii, iar cei din grupa L din lapte, pentru a nu ne ocupa decît de grupele serologice mai importante. Cînd deci o tulpină aparţine grupei A ea provine, în general, dintr-un proces patologic uman și poate produce, chiar dacă am izolat-o de la un animal, infecţii numai la om. Dimpotrivă, o tulpină izolată chiar de la om nu poate fi, de regulă, incriminată ca agent infecţios pentru această specie, dacă ea aparţine grupei B, adică streptococilor care produc mastita la vaci. Grupa serologică C cuprinde mai multe specii, care se disting prin caracterele lor biochimice. Aceste specii sînt *Str. equi* (agentul gurmei), *Str. pyogenes animalis*, sau *Str. zooepidemicus*, *Str. pyogenes humanus* sau *„Human C“*, și *Str. dysagalactiae*, agent al unei mamite benigne la vaci. Diferenţele între *Str. equi* și *Str. pyogenes animalis* nu sînt totdeauna nete, unele tulpini ocupînd o poziţie intermediară între tulpinile tip ale celor două specii.

Streptococul piogen animal se izolează de pe mucoasele cailor sănătoşi, ca şi din cele mai variate procese morbide de natură streptococică întîlnite la cal, bou, oaie, porc, cîine, iepure, cobai, găină etc.

Streptococul piogen uman din grupa C nu se deosebeşte de streptococii grupei A decît serologic. El poate fi izolat de pe mucoasele oamenilor şi animalelor sănătoase, dar şi din variate procese morbide de la om — erizipel, febră puerperală, pneumonii, abcese, septicemii — sau de la animale — cervicite şi avortoni de la iepe, avortoni de la scroafe, metrite, mastite de la vaci etc. Streptococii grupei D se izolează din intestin, dar spre deosebire de cei ai grupei L, şi din unele procese patologice umane ca endocardite, apendicite şi chiar peritonite. Cele patru grupe serologice mai importante, A, B, C şi D, se deosebesc aşa cum se vede în tabelul 5, şi prin modul lor de comportare pe diverse medii de cultură.

Tabelul 5

Modul de comportare, pe diverse medii de cultură, a streptococilor din grupele serologice A, B, C şi D

Grupa serologică	pH final în bulion cu 1 % glucoză	Hidroliza hipuratului de sodiu	Reducerea albastrului de metilen	Creşterea pe agar cu bilă		Fermentarea	
				10 %	40 %	trehalozei	sorbitei
A	4,8—5,2 (¹)	—	—	$\frac{--}{+}$	$\frac{--}{+}$	+	—
B	4,4—4,6	+	—	++++	++++	+	—
C	4,6—4,9	—	—	++	$\frac{--}{+}$	—	+
D	4,2—4,3	±	+	++++	++++	+	+

Explicaţia semnelor: (1) = pH-ul final în bulion glucozat se cercetează după o incubaţie de 4 zile; — = negativ; $\frac{--}{+}$ = foarte rareori pozitiv; $\frac{-}{+}$ = slab pozitiv; + sau ++ = pozitiv de intensitate deosebită; ++++ = intens pozitiv.

Cercetarea structurii antigenice a tulpinilor de streptococi şi împărţirea lor în grupe, care se pot uşor şi precis distinge între ele, a permis rezolvarea unor probleme privind epidemiologia infecţiilor streptococice. Astfel, folosind această metodă, s-a putut preciza, pe de o parte, că uneori animalele pot fi purtătoare de streptococi umani şi că deci pot transmite infecţia la om, iar, pe de altă parte, că omul poate fi purtător de streptococi patogeni pentru animale, putîndu-le deci transmite acestora o infecţie streptococică. Tot acest mod de cercetare a mai permis să se stabilească relaţiile dintre unii streptococi, socotiţi saprofiţi, şi unele procese patologice. Enterococii, care se găsesc obişnuit în intestin, fac parte din aceeaşi grupă serologică D cu cei izolaţi din unele procese patologice umane, ca endocardita, apendicita etc.

Aceste din urmă infecții sînt deci provocate de streptococii grupei D. Separarea enterococilor, de agentul acidifierii laptelui (*Str. lactis*) prezintă, la fel, o deosebită importanță. Acesta din urmă nu a putut fi găsit, pînă în prezent ca agent al unor procese patologice și deci consumul laptelui sau al brînzeturilor, alimente care conțin, din abundență *Str. lactis*, nu poate fi un izvor de infecție pentru om. De altfel, între enterococi, specia tip *Str. faecalis* și *Str. lactis*, există și alte diferențe, care se pot observa în tabelul 6.

Tabelul 6

Diferențierea dintre Str. faecalis și Str. lactis (după Topley și Wilson 1946)

	Hemoliza pe agar cu sînge de cal	Manita	Sorbita	Zaharoza	Rezistența la 60°C 30' minute	Creșterea			Grupa serologică	Originea
						la 45° C	la pH 9,6	în 6,5 % ClNa		
Str. faecalis	Variabilă	+	+	+	+	+	+	+	D	Fecale
Str. lactis	De regulă negativă	±	—	—	—	—	—	—	L sau N	Lapte Brînză

Tipurile de streptococi. În cadrul grupelor serologice descrise mai sus, cum și printre streptococii care nu au fost grupați în grupe, deoarece nu au un antigen corespunzător, s-au putut distinge mai multe tipuri serologice. Astfel, printre streptococii hemolitici umani s-au identificat mai bine de 30 de tipuri serologice distincte (clasificarea lui Griffith). Distincția se bazează, în cazul streptococilor umani, pe prezența nucleoproteinei M, sau proteinei T particulare fiecărui tip. Este de remarcat că asemenea substanțe nu sînt prezente la toate tulpinile (Agapi, 1936). Identificarea tulpinilor după tipul lor serologic este utilă în studiile epidemiologice privind în special scarlatina. Studiind tipurile de streptococi în cursul unei epidemii se pot obține date cu privire la evoluția epidemiei, așa cum constată Baldovin și colaboratorii (1951).

La streptococii mastitei vacilor din grupa serologică B, s-au identificat, la fel, trei tipuri serologice. Lancefield (1934—1938), pe baza reacției de seroprecipitare și a testului de protecție a șoarecilor, distinge 4 tipuri, și anume Ia, Ib, II și III, iar Stableforth (1932, 1937, 1946), pe baza reacțiilor de precipitare, aglutinare și de absorbție a aglutininelor, 16 tipuri. Diverse tipuri au fost identificate și printre streptococii care produc efect *viridans*.

Distincția tipurilor se face prin seroaglutinare sau prin seroprecipitare. În acest din urmă caz este necesară izolarea precipitinogenului prin mijloace chimice.

Precipitinogenul, cu specificitate de tip, este, pentru streptococii mastitei ca şi pentru cei de tip D nu o substanţă de natură proteică ca în cazul streptococilor scarlatinei, ci o substanţă hidrocarbonată, însemnată cu litera S.

Printre streptococii grupei C s-au identificat de asemenea mai multe tipuri (13), pe baza prezenţei unei proteine cu specificitate de tip.

Streptococii grupei serologice D au putut fi şi ei împărţiţi în mai multe tipuri serologice, ei posedînd o substanţă polizaharidică asemănătoare cu a streptococilor din grupa B şi numită S.

Seroaglutinarea, ca mijloc de diferenţiere a tipurilor, nu se poate aplica la toţi streptococii, din cauză că multe tulpini prezintă fenomenul de aglutinare spontană.

PATOGENITATEA

Elementele patogenităţii. Streptococii patogeni sînt izolaţi din variate procese morbide de la om sau diverse specii animale, precum şi de la purtătorii umani sau animali. Ei sînt agenţii unor infecţii iniţial localizate, dar care au o marcantă tendinţă de generalizare, de transformare în septicemie.

Toxicitatea şi toxinele streptococice. Acţiunea patogenă a streptococilor este datorită, în mare parte, virulenţei. Puterea de pătrundere şi de multiplicare în ţesuturi şi, în special, în sînge, este însoţită şi ajutată de secreţiile toxice pe care germenii le pun în libertate.

Hemolizine. Existenţa unor toxine hemolitice a fost dedusă întîi din observaţiile clinice şi anatomopatologice ale infecţiilor streptococice. Astfel, în acest sens, s-a constatat că, în general, procesele hemolitice însoţesc infecţiile streptococice. În plus, în culturi tinere de 7—8 ore, după Hellens, sau de 16—18 ore, după Mc Leod, s-au pus în evidenţă hemolizine (numite încă şi streptolizine) şi filtratele unor asemenea culturi sînt hemolizante. Aceste filtrate injectate la iepure în repetate rînduri produc, într-adevăr, o anemie gravă şi moartea animalului cu simptome de hemoglobinemie. Streptolizinele dispar din culturile mai vechi de 18—20 de ore. După Neil şi Mallory (1926), Tod (1932) există două streptolizine: una numită O, sensibilă faţă de oxigen, de o mare valoare antigenică şi care se secretă în medii cu drojdie şi alta S, care apare în mediile cu ser de cal, este insensibilă la oxigen, dar are o valoare antigenică redusă.

Pentru prepararea streptolizinei, Dîmboviceanu şi colaboratorii (1950) recomandă mediul lui Coburn şi Pauli, care se prepară aşa cum se arată mai jos.

Inima de bou proaspătă se degresează, se curăţă de vase şi apoi se toacă fin: la 453 g de tocătură se adaugă 1 000 ml de apă distilată şi amestecul este macerat 24 de ore la 6°C. Se încălzeşte/ apoi 30 de minute la 85°C, agitînd continuu. Se trece totul prin tifon şi hîrtie de filtru. Se adaugă, fără încălzire, 20 g de peptonă-proteoză Difco, 2 g de bicarbonat de sodiu, 1 g de fosfat disodic, 2 g de clorură de sodiu. Se ajustează pH-ul la 8,0. Totul se lasă o noapte la gheţar. Se trece întîi prin hîrtie de filtru şi apoi, pentru sterilizare, prin Seitz E. K. Se adaugă ser de cal, inactivat 60 de minute la 56°C, în proporţie de 20%.

Mediul, pentru obținerea streptolizinei, se însămînțează și, după o incubație de 15—16 ore la 37°C se centrifughează, în supernatant găsindu-se streptolizina.

Streptolizina este un ferment termolabil (se distruge la 55°C), de natură globulinică, filtrabil, cu optimum de acțiune la 37°C și la un pH ușor alcalin. Pentru determinarea concentrației de streptolizină într-un produs, acesta se amestecă în cantități variabile, sub volumul de 1 ml, cu cîte 1 ml de suspensie 5% globule roșii de iepure în apă fiziologică 0,9%. O primă citire se face după 2 ore la 37°C și a doua după 24 de ore la rece (5°C).

Secreția hemolizinelor nu este în strînsă legătură cu virulența unei tulpini, în sensul că pot exista tulpini care secretă hemolizine, dar care nu sînt virulente. Se admite că asemenea tulpini au însă o virulență potențială, în sensul că ele au capacitatea de a deveni virulente, deși nu sînt în momentul cercetării lor. Această transformare a tulpinilor hemolitice, nevirulente, se poate realiza, foarte probabil, în condiții naturale și de aici pericolul pe care îl prezintă prezența pe mucoase a unui streptococ hemolitic, chiar dacă nu este virulent, în momentul izolării. În medii cu sulfamide, secreția hemolizinelor este parțial inhibată (Dîmboviceanu și colaboratorii 1950).

Leucotoxine. Infecțiile streptococice sînt însoțite și de o dezintegrare a leucocitelor polinucleare prin leucotoxină. Levaditi (1918) observă, în acest sens, că secreția leucotoxinei este constant observată la tulpinile hemolitice, fără a exista o relație directă între activitatea hemolitică și cea leucotoxică. Principiul toxic răspunzător de dezintegrarea leucocitelor este găsit și în filtratele streptococice. Aceste filtrate produc, in vitro, moartea leucocitelor. Într-adevăr, leucocitele pot pierde, în prezența unor filtrate streptococice, capacitatea de a reduce albastrul de metilen.

Toxina Dick sau *toxina eritrogenă.* În 1924 G. și G. Dick pun în evidență, în filtratele culturilor de streptococi ai scarlatinei, o toxină cutanată activă în special pentru om și cunoscută sub numele de toxină eritrogenă sau toxina Dick. Este foarte probabil că un asemenea produs a fost obținut și de alți cercetători, care însă nu i-au putut determina importanța din cauza că nu s-au adresat unei specii sensibile. G. și G. Dick se adresează, pentru a dovedi toxicitatea filtratelor streptococice, omului și constată că asemenea filtrate injectate la acesta, pe cale intradermică, în diluții variind de la 1/500 la 1/5 000 (de regulă se injectează 0,1 ml dintr-o diluție 1/1 000), provoacă, la oamenii receptivi (care nu au suferit deci de infecții streptococice), la locul de inoculare, o reacție inflamatorie. La oamenii care au fost bolnavi de scarlatină, toxina nu produce nici o reacție, din cauză că este neutralizată de anticorpi specifici prezenți în organismul respectiv. Aceste filtrate, active pentru om în doze foarte mici, sînt puțin patogene pentru animalele de experiență. Șoarecele, cobaiul și iepurele suportă doze importante, fără a prezenta tulburări manifeste. Dozele repetate pot produce însă o cașectizare a animalului și, în cele din urmă, moartea.

Filtrate toxice s-au obținut și din streptococi de alte origini decît cei izolați din cazuri de scarlatină. Astfel, streptococii izolați de la om din cazuri de erizipel, febră puerperală sau poliartrite pot secreta, în medii de cultură, substanțe toxice pentru om.

Streptococul gurmei se pare că nu conţine o asemenea toxină, căci filtratele şi lichidele de centrifugare, obţinute din culturi de diverse vîrste — 3 — 12 zile — nu sînt patogene pentru cobai sau iepuri, chiar în cazul inoculărilor repetate.

Prepararea toxinei Dick. Secreţia toxinei eritrogene este condiţionată de tulpină, mediu, condiţii de cultură şi de aceea pentru a o prepara, se aleg întîi tulpinile virulente şi toxigene, care se cultivă într-un mediu convenabil. Bulionul preparat cu extract de carne şi avînd compoziţia de mai jos dă rezultate satisfăcătoare:

extract de carne	0,3 g
peptonă Witte	1 g
clorură de sodiu	0,5 g
apă distilată	100 ml

Amestecul se fierbe la autoclav timp de 1—2 ore, se alcalinizează la pH = 7,6, se trece prin hîrtie de filtru, se distribuie în flacoane şi se sterilizează la autoclav. Mediului i se poate adăuga, după sterilizare, glucoză, în proporţie de 1%, dintr-o soluţie sterilă cu o concentraţie de 30%. S-au folosit, pentru prepararea toxinei streptococice şi alte medii, dar rezultatele nu diferă esenţial de cele obţinute cu mediul de mai sus. Sîngele de oaie, iepure sau om, adăugat mediului în proporţie de 0,1—0,5% ar favoriza, după unii cercetători, producţia de toxină, dar după alţii un asemenea sînge nu ar avea nici o influenţă.

Baloanele cu mediu trebuie abundent însămînţate. Într-un litru de mediu este necesar să se însămînţeze, aproximativ, 5 ml de cultură în bulion de 24 de ore. Durata incubaţiei variază de la 2 la 8 zile.

Culturile dezvoltate la termostat se fenolează, în proporţie de 0,5%, se lasă la temperatura camerei timp de 24 de ore şi apoi se filtrează prin Seitz. Filtratul reprezintă toxina streptococică. Valoarea toxinei se determină, în cele mai bune condiţii, pe om şi ea se compară cu aceea a unei toxine standard cunoscute. O toxină bună trebuie să conţină cel puţin 20 000 unităţi cutanate pe 1 ml. O unitate reprezintă cantitatea minimă de toxină care produce o reacţie inflamatorie cu un diametru de cel puţin 1 cm la un om normal, neimun. Toxina poate fi titrată şi pe iepuri de casă de rasă Chinchila, stabilindu-se cantitatea minimă de toxină capabilă să provoace, prin injecţii intradermice, o reacţie locală avînd un diametru de cel puţin 1 cm. Titrarea pe om sau pe iepure se face după ce toxina a stat 30 de zile la gheţar.

Toxina eritrogenă, obţinută din culturile de streptococi ai scarlatinei, are multiple întrebuinţări în clinică şi laborator. Ea este folosită pentru executarea reacţiei Dick, reacţie prin care se disting persoanele receptive (reacţia Dick pozitivă) de cele nereceptive (reacţia Dick negativă), pentru imunizarea oamenilor receptivi la scarlatină, pentru hiperimunizarea cailor în vederea obţinerii serului antitoxic.

Fibrinolizina. Tulpinile virulente secretă un ferment de natură proteică, sensibil la căldură (100°C) şi faţă de fermenţii proteolitici (pepsina şi tripsina), capabil să lizeze coagulul de fibrină şi numit, pentru acest motiv, fibrinolizină sau streptochinază (activează un factor litic normal). Fiind secretat numai de tulpinile virulente, în special de cele din grupa serologică A, el are probabil și funcție de virulență. A fost identificat de Tillet și Garner (1933). Se găsește în filtratele culturilor de 16—18 ore, la 37°C.

Pentru obținerea unor filtrate active se folosește mediul lui Spronck modificat de Holmberg și Winblad și al cărui mod de preparare îl dăm după Dîmboviceanu și colaboratorii (1950).

Se suspendă 1 000 g de drojdie de bere în 5 l de apă și amestecul se fierbe 20 de minute, agitînd tot timpul. Totul se toarnă în vase cilindrice și se lasă 24 de ore la 6°C. Apoi lichidul supernatant se decantează și i se adaugă:

clorură de sodiu	0,3%
proteoză-peptonă Difco	1 %

Se neutralizează perfect cu soluție 10% de hidrat de sodiu. Se sterilizează 30 de minute la 120°C. Se adaugă apoi 0,1% bicarbonat de sodiu. Se sterilizează 20 de minute la 105°C. Se adaugă soluție sterilă de glucoză în proporție de 0,05 g%.

Mediul, în vederea obținerii fibrinolizinei, se însămînțează cu tulpinile de streptococ alese și după o incubație de 16—18 ore la 37°C culturile se centrifughează la viteză mare și lichidului de decantare obținut i se determină conținutul în fibrinolizină după tehnica Tillet și Garner, pe care o dăm mai jos.

Pregătirea plasmei oxalatate. În tuburi sterile se pun cîte 0,5 ml de soluție anticoagulantă compusă din 1,2 g de oxalat de amoniu sicc și 0,8 g de oxalat de potasiu sicc, în 100 ml de apă bidistilată. Soluția din tuburi se evaporă pînă la uscare și apoi în fiecare tub se pun cîte 5 ml de sînge normal de om (se recoltează de la persoane care nu au suferit de afecțiuni streptococice și al căror sînge nu conține antifibrinolizine). Se amestecă și se centrifughează. Se decantează plasma, care se păstrează la ghețar.

Executarea reacției. În tuburi de reacție se pun 0,2 ml de plasmă oxalatată, 0,8 ml de ser fiziologic și 0,5 ml din lichidul de cercetat, diluat sau nediluat. Se agită și se adaugă apoi 0,25 ml dintr-o soluție 0,25% de Cl_2Ca. Se agită din nou amestecul și tuburile se pun în baia de apă la 37°C. Se notează timpul în care se constituie cheagul și timpul în care el se dizolvă sub influența fibrinolizinei, determinîndu-se astfel capacitatea fibrinolitică a unei tulpini.

Hialuronidaza. În afară de hemolizine, leucotoxine, toxina eritrogenă și fibrinolizină, unii streptococi hemolitici (55% după Pike, 1948) secretă și hialuronidază (Duran-Reynals, 1933). Secreția acestui ferment, cu funcțiuni agresinice, este parțial inhibată în medii cu sulfamide (Ionescu-Mihăești și colaboratorii, 1949); din contra, în medii cu penicilină (Faber și Rosendal, 1955) secreția sa crește. Hialuronidaza streptococică are funcțiuni antigenice și inoculată la animale produce anticorpi neutralizanți.

Corpii microbieni, omorîți prin căldură, alcool, eter sau alt mijloc, sînt puțin nocivi și animalele de experiență îi suportă în cantități mari, fără modificări în starea generală. Cobaiul, de exemplu, suportă 0,01 g de streptococi injectaţi pe cale intravenoasă, iar pe cale subcutană o doză de zece ori mai mare produce doar o tumefacţie locală, care se resoarbe, fără a pune în pericol viaţa animalului. Streptococii gurmei, omorîţi prin alcool sau eter şi inoculaţi, pe cale intravenoasă, la cal, în doză de 0,01 g produc febră, dispnee, tremurături musculare etc., dar nu moartea animalului. Pe cale subcutană, doze de cinci sau zece ori mai mari provoacă o tumefacţie locală, fără simptome generale aparente (Brocq-Rouseau şi col).

Infecţia experimentală. Tulpinile de streptococ, izolate din unele procese morbide, de la om sau animale, sînt patogene pentru animalele de experienţă, în special pentru şoarece şi iepure. Cobaiul este puţin sensibil. Porumbelul este refractar. Cîinele nu poate fi infectat decît cu doze mari de streptococi virulenţi — 10 ml sau mai mult. Pisica este refractară. Animalele domestice mari, ca boul, calul, oaia, sînt puţin sensibile şi inoculările subcutane le produc reacţii locale, edem, abcese, dar slabe reacţii generale.

Animalele folosite pentru a determina virulenţa streptococilor sînt iepurele şi şoarecele. Virulenţa streptococilor, chiar pentru aceste specii, variază în limite foarte largi în raport cu tulpina, calea de inoculare, rasa animalului.

Şoarecele. Streptococii hemolitici provenind direct din procese morbide de la om sau animale sînt, de regulă, dar nu totdeauna, patogeni pentru şoarece pe cale subcutană. Doza minimă mortală pentru streptococii de origine umană, variază de la 0,02 la 0,0002 ml de cultură în bulion-ser. Streptococii izolaţi de la animale, în special din infecţia gurmoasă a calului, sînt mult mai patogeni ca cei izolaţi din procesele patologice umane. Astfel, examinîndu-se virulenţa a 35 de tulpini de streptococi gurmoşi, s-a găsit că cele mai multe dintre ele omoară şoarecele într-o diluţie de 1/1 000, o singură tulpină îl omoară într-o diluţie de 1/100 000, iar 7 tulpini nu erau patogene într-o diluţie de 1/400. Durata infecţiei, la şoarece, variază de la 1 la 36 de zile, dar majoritatea animalelor mor înainte de 8 zile.

Leziunea locală, în cazul injecţiei subcutane, variază în raport cu virulenţa tulpinii. Tulpinile puţin virulente produc doar o infiltraţie locală, care provoacă căderea părului, dar nu constituirea unui abces. Tulpinile, cu un grad mai mare de virulenţă, produc abces local, urmat de vindecare sau de septicemie şi moarte.

Şoarecele poate fi infectat şi pe cale intraperitoneală, care, în general, este o cale mai severă ca cea subcutană; într-adevăr, tulpini inactive pe cale subcutană pot produce o infecţie mortală pe cale intraperitoneală. Inhalaţia culturilor de streptococi produce, după unii autori, un procent redus de infecţii mortale. Unele tulpini sînt însă foarte active pe această cale şi o picătură de cultură, depusă pe mucoasa nazală a şoarecilor anesteziaţi, produce moartea animalului în 24 de ore, la autopsie găsindu-se o congestie pulmonară puternică şi prezenţa a numeroşi streptococi în pulmon.

Iepurele este mai sensibil ca şoarecele şi el poate fi infectat pe diferite căi. Tulpinile puternic virulente îl omoară în cîteva zile, producînd o septicemie. Calea de injecţie, pentru aceste tulpini, prezintă o mică importanță. întrucît oricare ar fi calea de pătrundere germenul ajunge și se multiplică în sînge. La autopsia animalelor moarte în urma unei septicemii se găsesc leziuni congestive generale. Exudate sero-sanguinolente se constată, de regulă, în cavitatea peritoneală. Sîngele din cord este hemolizat și necoagulabil. Rinichii sînt măriți și congestionați. Edem la locul de inoculare se poate observa în cazul injecției subcutane.

Doza minimă mortală este în funcție și de poarta de intrare; pentru streptococii gurmoși s-a stabilit că iepurele este omorît în 24—36 de ore cînd este inoculat pe cale subcutană cu 3—5 ml, pe cale intrapleurală cu 2 ml, pe cale intraperitoneală cu 0,25 ml. Iepurii, inoculați pe cale intravenoasă, cu 0,5—1 ml de cultură în bulion-ser, de 24 de ore, mor în 1—3 zile, iar cei inoculați, pe cale intratraheală, cu 1 ml, în 1—3 zile.

Tulpinile izolate din infecțiile streptococice umane sînt, de regulă, puțin patogene pentru animalele de experiență. Inoculate pe cale subcutană ele produc o infiltrație locală vindecabilă. Aplicate pe pielea scarificată, la iepure, ele produc o leziune asemănătoare erizipelului uman și anume, tumefacție și eritem al pielii. Tulpinile puțin patogene produc totuși o artrită purulentă cînd sînt inoculate pe cale intraarticulară la iepure și această cale poate fi folosită pentru a preciza gradul de patogenitate a unei tulpini. Streptococii inoculați pe cale intravenoasă pot produce o septicemie, dacă sînt foarte virulenți sau pot da naștere la diverse localizări, dacă sînt mai puțin virulenți. Unii cercetători afirmă că se poate constata, în acest din urmă caz, un anumit tropism, care este în legătură cu originea tulpinii; germenii se fixează, uneori, în organul din care au fost izolați.

Cobaiul prezintă un grad de rezistență față de infecția streptococică. Unii autori reușesc să-l infecteze pe cele mai variate căi, cu unele din tulpinile de streptococi izolate din leziunile gurmoase ale cailor. Pe cale subcutană, doza mortală este de 0,5—4 ml cultură de 24 ore în bulion-ser. Calea peritoneală este încă și mai favorabilă și unele tulpini îl omoară chiar cu doza de 0,1 ml. Doza mortală este de 0,5—1 ml pe cale intravenoasă, de 0,25—0,5 ml pe cale intrapleurală, de 2 ml pe cale intradermică. Durata bolii este de la una la cîteva zile.

Șobolanul alb este sensibil față de streptococii gurmei. Dozele de 1 ml sau mai puțin îl omoară în cîteva zile. Inocularea se poate face pe cale subcutană, intraperitoneală sau intratraheală. Rezultatele sînt sensibil aceleași.

Exaltarea virulenței se poate realiza prin treceri succesive pe animale de experiență.

Pierderea virulenței tulpinilor streptococice este un fapt de observație curentă în laborator. Tulpinile cultivate și conservate pe medii obișnuite își pierd, mai curînd sau mai tîrziu, puterea lor invazivă față de țesuturile vii. O conservabilitate a virulenței, de aproximativ 3 luni, este asigurată în fiole închise la flacără. In acest scop, cultura de 24 de ore în bulion-ser se distribuie în fiole care se închid la flacără și se conservă la rece. Viabilitatea, în aceste condiții, poate fi foarte lungă — 9 sau chiar 10 luni. Se admite că tulpinile atenuate prin conservare pe medii de cultură, își pot recăpăta virulența inițială prin treceri pe animale sensibile.

Tulpinile de streptococ, prin treceri pe animale, își pot modifica caracterele biologice inițiale. S-a observat, astfel, că tulpinile de streptococi gurmoși trecuți prin șoarece pierd proprietatea de a fixa alexina în prezența serului gurmos.

INFECȚIILE STREPTOCOCICE NATURALE

Streptococii umane

Infecțiile streptococice umane îmbracă cel mai variat aspect clinic și anatomo-patologic. Germenii se pot localiza în cele mai variate organe, producînd inflamații și supurații de intensitate variabilă și putînd trece, din aceste focare locale, în sînge. Focarul local poate fi primar sau secundar. În primul caz el poate evolua spre septicemie, în al doilea este o localizare a unei infecții generale. Dintre toate bacteriile patogene pentru om, streptococul este cel mai apt de a se multiplica în sînge și a produce septicemii.

Clinica umană recunoaște, printre numeroasele aspecte ale infecției streptococice, streptococii cu caractere nosologice distincte și bine precizate, și anume: erizipelul, scarlatina, febra puerperală și angina streptococică. Reumatismul acut este socotit tot ca o streptococie.

Angina sau amigdalita streptococică este o infecție a amigdalelor întîlnită destul de frecvent la om și care se pare că este punctul de plecare a tuturor infecțiilor streptococice. Într-adevăr, scarlatina, debutează cu o faringită streptococică, iar în infecțiile erizipelatoare streptococul se găsește nu numai în leziunea cutanată, ci și în faringe.

Angina streptococică se manifestă printr-o tumefacție a amigdalelor, congestia faringelui și febră, care este consecință a trecerii germenului din focarul local în sînge. Septicemiile sînt foarte frecvente și înainte de descoperirea sulfamidelor și antibioticelor ele evoluau grav.

Erizipelul se caracterizează prin constituirea unei plăci inflamatorii cutanate, eritematoasă, caldă, cu tendințe invadante. Leziunile cutanate sînt însoțite de adenopatii regionale și tulburări generale, febră, frisoane etc. Infecția se face printr-un traumatism, fie pe cale hematogenă cu germeni care după cît se pare, se găsesc în criptele amigdaliene. Recidivele sînt frecvente ceea ce înseamnă că un prim atac nu a reușit să imunizeze organismul.

Scarlatina este considerată în urma cercetărilor făcute în special de Dick și Dick (1924—1925) ca o toxiinfecție streptococică. Intervenția unui virus filtrabil, admisă de unii cercetători, nu a putut fi sigur demonstrată. Boala este mai frecventă la copil ca la adult și începe printr-o angină, urmată repede de simptome generale grave, febră, frisoane, vărsături. Perioada febrilă a bolii este urmată de erupții cutanate și descuamații, care conțin agentul patogen și prin intermediul cărora se poate extinde infecția.

Spre deosebire de celelalte streptococii, scarlatina este evident contagioasă și în colectivități îmbracă caracter epidemic.

Febra puerperală este o infecție produsă, de cele mai multe ori, de streptococii hemolitici singuri sau în asociație cu streptococii anaerobi. Infecția este favorizată de condițiile anatomice în care se găsește uterul imediat după naștere. El se prezintă ca o plagă larg deschisă, în care germenii cei mai variați (streptococi, stafilococi, germeni anaerobi) pot pătrunde cu ușurință. Germenii se multiplică întîi in situ, de unde apoi invadează organismul. Agenții infecției pot fi introduși în vagin și uter cu mîna operatorului sau cu instrumentele, dar, de multe ori, ei preexistă pe mucoasa vaginală și după naștere pătrund și se multiplică întîi în cavitatea uterină și apoi în sînge. Infecția post-natală poate rămîne însă și localizată pe uter și organele anexe fără a se generaliza.

Profilaxia streptocociilor umane se sprijină, în primul rînd, pe identificarea purtătorilor de streptococi hemolitici prin culturi pe agar cu sînge și pe izolarea și sterilizarea acestora prin tratament cu sulfamide sau antibiotice.

Bolnavii, în special cu scarlatină, trebuie izolați prin spitalizare. Imunizarea activă se aplică numai în cazul scarlatinei, boală cu caracter de contagiozitate marcată și care îmbracă din această cauză frecvent caracter epidemic. Substanța imunizantă este reprezentată prin toxina eritrogenă Dick, care dezvoltă o imunitate antitoxică, dar nu una antimicrobiană. Toxina Dick se folosește ca atare, adică fără o prealabilă detoxifiere.

Tratamentul streptocociilor umane

Tratamentul streptocociilor umane se face în general cu bune rezultate prin sulfamide și în special antibiotice. Apariția raselor chimiorezistente este mai puțin frecventă la streptococi ca la stafilococi și chiar cînd apare ea este mai puțin intensă și poate fi învinsă prin doze mari.

Sulfamidele dau rezultate bune în anginele (amidgalitele) streptococice, în erizipel și febră puerperală, dar nu sînt în general, active în scarlatină. În această din urmă infecție, sulfamidele previn complicațiile, dar nu influențează sensibil evoluția bolii. În schimb, antibioticele — penicilina — dau rezultate foarte bune, scurtînd evoluția infecției și prevenind complicațiile. Aplicate la începutul bolii, ele opresc desfășurarea infecției împiedicînd însă, mai ales cînd este administrată îndată după apariția primului simptom, instalarea imunității, ceea ce are drept consecință frecvente recidive. Infecția naturală, în cazul cînd nu se intervine cu antibiotice și boala evoluează normal, lasă o imunitate solidă, care se întinde asupra întregii vieți. Din acest punct de vedere, ca și din altele de altfel, scarlatina se apropie foarte mult de gurma calului.

Streptococii animale

Gurma calului
(Adenitis equorum)

Gurma este o infecție a solipedelor, care se manifestă prin inflamația căilor aeriene anterioare și constituirea unor colecții purulente în diverse țesuturi, dar mai ales în ganglionii limfatici. Boala este produsă de *Str. equi* singur sau, mai rar, în asociație cu *Str. pyogenes animalis*. Acesta din urmă invadează leziunile deja constituite, dar niciodată singur el nu produce gurma. Diferențierea speciei *Str. equi* de specia *Str. pyogenes animalis* se face prin cercetarea proprietăților biochimice (tabelul 7).

Tabelul 7

Principalele caractere distinctive dintre Str. equi și Str. pyogenes animalis

Specia	Aspectul cultural pe agar cu ser	Dezvoltarea pe agar simplu	Dezvoltarea pe agar cu sînge biliat 10%	Dezvoltarea pe agar cu sînge biliat 40%	Fermentarea lactozei	Fermentarea sorbitei
Str. equi	Colonii, de regulă, mucogene	— mai rar +	Unele tulpini se dezvoltă, altele nu	Unele tulpini se dezvoltă, altele nu	—	—
Str. pyogenes animalis	Colonii, de regulă, nemucogene	+	+	+	+	+

Criteriul cel mai sigur de diferențiere îl constituie modul de comportare față de lactoză și sorbită. Cu privire la modul de comportare față de agarul cu sînge biliat, tulpinile de *Str. equi* pot fi împărțite în două grupe, după cum se dezvoltă sau nu pe acest mediu.

Agentul gurmei, *Str. equi,* Sand și Jensen (1888), a fost remarcat, pentru prima oară, în leziunile gurmoase *(Adenitis scrophula equorum, Morbus glandulosus)* de Rivalta (1873), apoi de Baruchello, (1886), Sand și Jensen (1887—1888), Schütz (1891). Este pe nedrept numit streptococul lui Schütz, deoarece nu acest autor l-a văzut și studiat pentru prima oară.

Str. equi se găsește în colecțiile purulente sub formă de coci izolați, diplococi sau lanțuri, uneori foarte lungi. El se izolează din puroi, pe medii cu ser sau sînge. Nu tulbură, de regulă, inițial bulionul cu ser sau glucoză, dar formează un depozit abundent. În depozit, germenii sînt grupați în lanțuri foarte lungi. Acest aspect cultural și morfologic se modifică prin treceri pe mediile artificiale. Germenii tulpinilor de laborator sînt grupați în lanțuri scurte, tulbură, mai mult sau mai puțin intens, bulionul și formează depozit. Pe agar cu ser germenul dă colonii mici, de culoare gri-albăstruie. Unele tulpini dau colonii mucoase. Coloniile pe agar cu sînge sînt înconjurate de o zonă clară de hemoliză. Pankratov și Tretiakova (1953) au constatat că streptococul gurmei se disociază în forme S și R și că din filtratul puroiului gurmos se pot obține, prin treceri pe animale, culturi de streptococ. Germenul s-ar putea prezenta deci sub forme filtrabile. Streptococul gurmei secretă hialuronidază.

Str. equi rezistă în culturi, la rece (4—6°C), cel puțin 2 luni. În condiții de anaerobioză — sub strat de vaselină sau în pipete capilare închise la flacără, se conservă 5—8 luni. Liofilizat, germenul rezistă 1 an sau mai mult. Pe paie și fîn rezistă 18—22 de zile (Pașen citat de Reabova, 1956). În bălegarul steril germenul este încă viabil după 175 zile, iar în bălegarul nesteril pînă la 72 de zile; pe pereții grajdurilor se păstrează viabil pînă la 6 luni (Reabova, 1956).

Infecția experimentală. Gurma nu poate fi în general reprodusă prin inocularea culturilor de *Str. equi,* ceea ce a făcut pe unii autori să admită intervenția unui virus filtrabil (virusul catarului infecțios sau virusul influenței, Manninger, 1948) în producerea infecției naturale. Virusul ar modifica mucoasa căilor respiratorii în așa fel, încît pătrunderea streptococilor de pe mucoase ar fi, astfel, mult ușurată. Conform acestei ipoteze *Str. equi* ar fi un germen de infecție secundară. El ar fi prezent la toate cabalinele, însă boala nu apare decît în cazul intervenției prealabile a virusului. Cercetările făcute în scopul de a izola *Str. equi* de pe mucoasele căilor respiratorii ale animalelor sănătoase au fost negative în miinile unor cercetători, pozitive în ale altora. Podgorski (1950) găsește, de exemplu, că într-un efectiv de cai, indemni de gurmă, 4,5% erau purtători de *Str. equi,* iar 10% purtători de *Str. pyogenes.* Cu toate acestea, gurma nu a apărut în efectiv, deși au intervenit condiții defavorabile, în întreținerea animalelor. Pe de altă parte, Tudoriu și colaboratorii (1955) nu reușesc să izoleze niciodată specia *Str. equi* de la caii făcînd parte din efective indemne de gurmă, ceea ce demonstrează că germenul nu este prezent decît la animalele bolnave de gurmă și că prezența germenilor duce la apariția bolii în efectivele receptive (caii netrecuți prin boală).

Culturile de *Str. equi,* inoculate pe cale subcutană, provoacă o leziune inflamatorie locală (un abces), febră, dar nu leziunile care caracterizează infecția gurmoasă spontană. Forma clinică a gurmei spontane, așa cum reiese din numeroase cercetări făcute de Schütz (1888), Sand și Jensen (1888) și recent de Jivoin și colaboratorii (1955) poate fi însă reprodusă cu regularitate la animale receptive (mînji netrecuți prin boală și nevaccinați), depunînd puroiul gurmos sau streptococic pe mucoasa nazală în prealabil scarificată. Puroiul folosit poate fi recoltat din abcese gurmoase spontane sau din abcese provocate experimental la cai, prin inocularea subcutană a culturilor de *Str. equi.* Müller, citat de Bongert (1913) a reprodus boala administrînd puroiul gurmos cu apă sau furaje la mînji receptivi.

Față de aceste rezultate, streptococul trebuie considerat ca agentul unic sau, în orice caz, agentul principal și esențial al gurmei. Acest fapt reiese atît din cele relatate mai sus, cît și din prezența germenului în organismul tuturor animalelor bolnave și din eficacitatea remarcabilă a tratamentului cu antibiotice. Însușirea antibioticelor de a preveni și vindeca gurma demonstrează rolul esențial al streptococului în etiologia acestei boli. Datele epizootologice sprijină și ele această concepție. Se observă, într-adevăr, că în unele herghelii boala este absentă ani la rînd, pentru ca, de exemplu, în urma introducerii unor animale noi boala să apară și să dureze cîțiva ani. Reiese de aici că boala apare în urma introducerii streptococului gurmei și că ea se menține atît cît și germenul. Purtătorii și excretorii de germeni au în consecință, un rol important în difuziunea infecției.

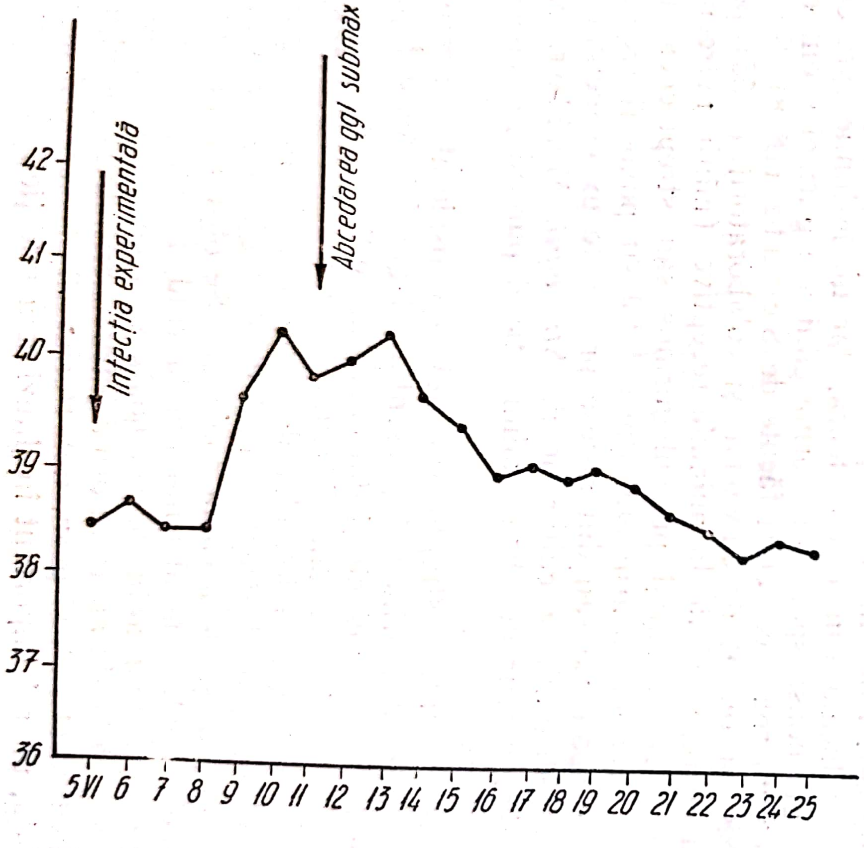


Fig. 17 — Curbă termică în infecția gurmoasă experimentală la mînz

Infecția s-a făcut prin badijonarea mucoasei nazale scarificate cu puroi gurmos

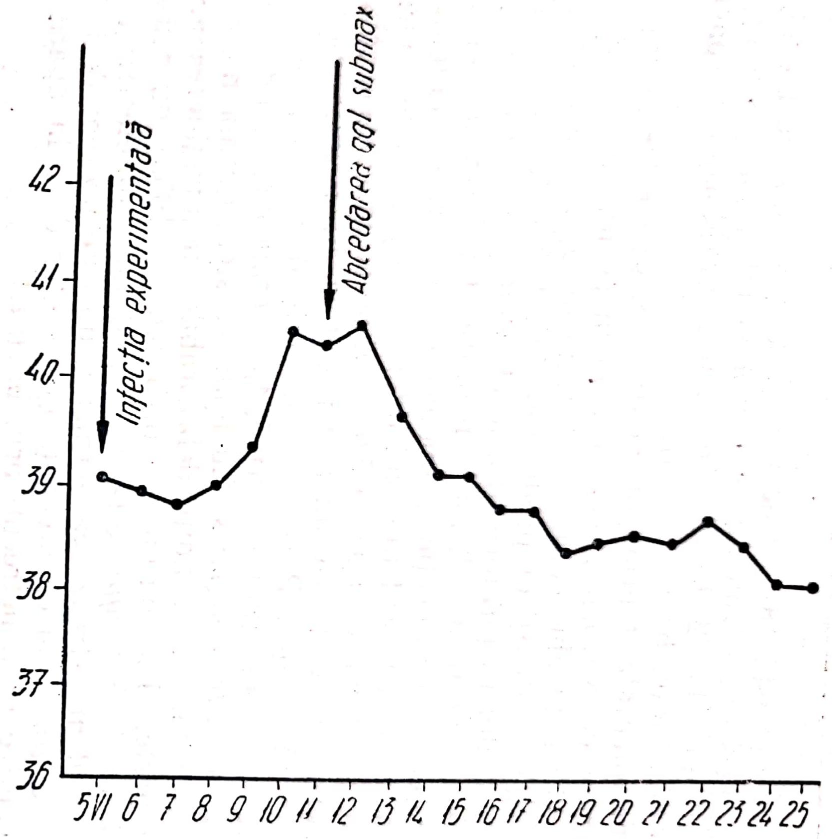


Fig. 18 — Altă curbă termică în infecția gurmoasă experimentală la mînz

Infecția s-a făcut prin badijonarea mucoasei nazale scarificate cu puroi gurmos

Infecţia naturală. Boala este întîlnită mai frecvent în herghelii decît la animale izolate. Sensibilitatea individuală este, în primul rînd, în raport cu vîrsta ; animalele tinere sînt sensibile, în timp ce cele adulte sînt practic refractare. Rezistenţa animalelor adulte este probabil datorită trecerii prin boală. Tineretul de la 3 luni la 5 ani este foarte receptiv şi infecţia, o dată apărută într-o grupă de asemenea animale, se extinde la toate dacă nu se ia nici o măsură eficace de prevenire. Izbucnirea infecţiei şi, mai cu seamă, gravitatea ei sînt, într-o oarecare măsură, condiţionate de factori ajutători. Frigul, epuizarea, hrana necorespunzătoare, catarul căilor respiratorii anterioare etc. înlesnesc fixarea germenilor de pe mucoase în ţesuturi şi multiplicarea lor.

Simptome. Simptomele clinice, în unele cazuri, devin manifeste numai în urma intervenţiei unui factor ajutător. Se citează cazuri de apariţie a gurmei printre caii care au făcut un marş obositor sau au stat în ploaie şi frig. Perioada de incubaţie este de la 4 la 8 zile sau chiar şi mai mult. Primul semn al infecţiei constă dintr-o scurgere nazală, datorită inflamaţiei căilor respiratorii anterioare. În formele uşoare, aceasta poate rămîne singura manifestare clinică a bolii. De cele mai multe ori însă scurgerea şi inflamaţia căilor aeriene anterioare sînt însoţite de tumefacţia ganglionilor submaxilari. Primele manifestări clinice sînt însoţite şi de tulburări generale, hipertermie, 40—41°C sau mai mult, abatere, lipsă de poftă de mîncare etc. Scurgerea nazală iniţial fluidă, de tip seros, devine, în zilele următoare, purulentă. Mucoasa nazală este roşie, cu foliculii limfatici hipertrofiaţi, constituind mici abcese. Prin deschiderea lor se creează mici ulcere, cu fondul şi marginile roşii. Ganglionii submaxilari sînt tumefiaţi, calzi, dureroşi. La început ei sînt duri, dar după cîteva zile devin fluctuenţi, semn că abcesul este maturat ; el se poate deschide spontan sau este mai bine să fie deschis prin mijloace chirurgicale. Fistula creată se vindecă în cîteva zile. Boala, sub această formă, durează 2—3 săptămîni, animalul vindecîndu-se complet. Uneori însă această formă este urmată de noi localizări în alte pachete ganglionare sau în alte organe. Streptococii, vehiculaţi de torentul limfatic sau saguin, se pot localiza, în aceste cazuri, în cele mai variate organe, constituind abcese şi producînd simptome a căror gravitate este în funcţie de importanţa organului lezat. Se întîlnesc astfel localizări pulmonare, gastro-intestinale, renale, cerebrale etc.

Gurma poate uneori evolua ca o inflamaţie a regiunii laringiene. Clinic, această formă se traduce prin sensibilitatea regiunii şi tumefacţia ganglionilor regionali retrofaringieni şi subparotidieni. Inflamaţia mucoasei nazale, ca şi scurgerea nazală pot lipsi. Conţinutul abceselor ganglionare se poate vărsa în laringe şi elimina pe nas, sau aspira în pulmoni.

Mortalitatea în gurmă este redusă (1—2%) atunci cînd infecţia evoluează în efective normal întreţinute şi alimentate. Ea este mai ridicată la animalele tinere, precum şi la cele cu deficienţe alimentare sau care se găsesc în condiţii neigienice.

Modificările anatomice variază în raport cu tipul de evoluţie a bolii. În formele septicemice se vor găsi leziuni congestive în toate organele. În formele cronice, abcesele şi colecţiile purulente pot fi găsite în cele mai variante organe şi pachete ganglionare. Localizările în ganglionii mezenterici sînt foarte frecvente. În aceste cazuri, ganglionii respectivi sînt transformați în mase purulente și se prezintă ca niște pungi pline cu materie purulentă. Cantitatea de puroi pe care o pot conține aceste pungi este enormă 1 l sau chiar mai mult.

Diagnosticul formelor tipice de gurmă, care se manifestă prin scurgerea nazală, febră, hipertrofia ganglionilor submaxilari nu prezintă dificultăți. Formele atipice sînt însă mai greu de diagnosticat, mai ales atunci cînd apar cazuri izolate. În hergheliile în care infecția a fost anterior identificată, sub aspectele ei tipice, diagnosticul acestor forme se face cu ușurință. Se poate recurge, în cazurile dubioase, la examenul sîngelui și urinii, gurma caracterizîndu-se printr-o leucocitoză neutrofilă și prin prezența indicanului în urină.

Infecția gurmoasă poate fi confundată cu morva și diferențierea între cele două infecții se face printr-un examen clinic atent și, cu precădere, prin maleinizare.

Profilaxie și tratament. Izolarea dă, uneori rezultate pozitive în prevenirea infecției gurmoase. În consecință, animalele sănătoase vor fi ferite de contactul cu animalele bolnave sau cu secrețiile acestora. În grajduri indemne nu vor fi introduse animale noi decît după ce acestea au stat în carantină cel puțin 2 săptămîni.

În cazul cînd boala a apărut într-un grajd, se vor lua măsuri de izolare a animalelor bolnave. Dezinfecția va însoți izolarea riguroasă a bolnavilor. Ea se poate face fie cu soluție de creolină 5% (soluție caldă), fie cu soluție de sodă 2% caldă (50°C la perete), fie cu soluție de formol 2% (Reabova, 1956).

În prevenirea și tratamentul gurmei s-au folosit pe o scară întinsă, produsele biologice — ser imun, vaccinuri, antivirus. Valoarea preventivă și curativă a produselor biologice este însemnată după unii observatori, dar după alții ea e nulă.

Vaccinul antigurmos, constituit din suspensii de germeni omorîți prin căldură (încălzire de o oră la 60°, Sachelarie, 1922) sau formol și suspendați eventual în gel de hidroxid de aluminiu, se folosește atît la imunizarea animalelor sănătoase, cît și ca mijloc terapeutic (vaccinoterapie). Rezultatele sînt puțin satisfăcătoare. Serul imun asociat cu administrarea streptococilor virulenți pe mucoasa nazală scarificată ar da cele mai bune rezultate în imunizarea activă a cailor.

Antivirusul gurmos este folosit, în unele țări, în tratamentul infecției gurmoase. Acest produs se prepară astfel: culturile de streptococi gurmoși în bulion glucozat 0,2%, sînt filtrate după o incubație de 1 lună. În filtrat se însămînțează din nou un streptococ gurmos (tulpină diferită de prima); după o nouă incubație de 1 lună, cultura se filtrează și filtratul reprezintă antivirusul gurmos. El trebuie să fie steril și se poate folosi sub formă de pansamente pe leziunile gurmoase deschise sau în injecții parenterale (Tacu, 1937). Pe cale subcutană, antivirusul produce un edem inflamator local, care dispare fără tratament. Introdus pe cale intravenoasă el produce, chiar la animalele normale, o stare febrilă în primele 6 ore de la injecție și, la unele animale, șoc. Ameliorarea stării generale se observă la animalele care prezintă șoc după injecție, însă uneori acesta este așa de puternic, încît poate ucide animalul (Verge, 1945). Pentru acest motiv, injecțiile trebuie făcute cu multă precauție și, eventual, după desensibilizarea animalului prin inocularea prealabilă a unei doze reduse de 3—5 ml. Doza terapeutică de antivirus este de 80—100 ml pe cale subcutană și de 40—50 ml pe cale intravenoasă.

Antibiotice. Produsele biologice au fost practic total înlocuite prin sulfamide sau antibiotice — penicilină, streptomicină — care au o valoare preventivă și curativă însemnată. Penicilina se administrează în doze de 2 500—3 000 U.I. pe kilocorp și pentru 4 ore.

Mamita streptococică a vacilor
(Streptococcic mastitis)

Etiologie. Inflamația ugerului, la vacă, este, de cele mai multe ori, produsă de streptococi. După unele statistici, 85% din infecțiile mamare sînt de natură streptococică și numai 15% sînt provocate de alți germeni: 7% de stafilococi piogeni, 3—4% de bacilii tuberculozei, 3—4% de bacili piogeni, colibacili, pasteurele etc.

Natura streptococică a mamitei vacilor a fost demonstrată, într-o serie de lucrări publicate între anii 1884 și 1887, de Nocard și Mollereau. Autorii descriu caracterele clinice și epizootologice ale infecției, izolează agentul cauzal, îi studiază caracterele și reproduc cu el boala. Agentul bolii este un streptococ, de regulă *Str. mastitidis,* numit încă și *Str. agalactiae,* dar infecția poate fi cauzată și de streptococi hemolitici din grupa A sau C sau chiar nehemolitici. Enterococii, ca și *Str. lactis,* nu produc adevărate mamite, ci numai tulburări ale secreției laptelui. Totuși, s-au descris infecții provocate de enterococi și anume de *Str. faecalis.* Slanetz și Naghski (1940), examinînd 680 de tulpini de streptococi izolate de la vaci cu mamite, au găsit că 563 (84,2%) aparțineau speciei *Str. agalactiae,* 93 (12,2%) speciei *Str. uberis,* 15 (2,2%) speciei *Str. dysagalactiae* și 9 (1,3%) speciei *Str. faecalis.*

Streptococul mamitei *(Str. mastitidis)* este polimorf. El poate fi oval sau rotund, grupat în lanțuri scurte sau foarte lungi. Forme mari, ovale, se găsesc la capătul lanțurilor scurte. În lapte, cocul ar prezenta o capsulă subțire. Dimensiunile cocului variază de la 0,4 la 1 micron.

Se cultivă pe mediile obișnuite: bulion și agar. Reacția mediului trebuie să fie ușor alcalină (pH = 7,2) și bulionul să fie preparat din carne de cal. Bulionul cu ser, cazeină, sînge sau zaharuri fermentescibile ca glucoză, lactoză, oferă germenului condiții încă și mai bune de vegetație. În mediile lichide germenii aglutinează spontan și cultura se prezintă ca un depozit floconos, abundent, putînd ocupa pînă la 1 cm din înălțimea coloanei de lichid. Lichidul rămîne, de cele mai multe ori, limpede. Tulburarea mediului poate constitui o indicație că în cultură, pe lîngă agentul mamitei, se mai găsesc și alți streptococi.

Pe agar, germenul formează colonii mici de 1—4 mm, cu suprafața ușor aspră, cu marginile ușor dințate, putîndu-se observa uneori chiar prelungiri laterale. Agarul cu ser sau cazeină convine izolării germenului din lapte.

Nu se dezvoltă pe cartof; crește foarte slab în gelatină la 20°C.

El coagulează laptele după 24 de ore de la însămînțare.

Pe agar cu sînge, majoritatea tulpinilor de *Str. agalactiae* produc efect *viridans* sau sînt ahemolitice. Unii cercetători afirmă că unele tulpini produc hemolizine de tip beta.

Tulpinile de *Str. mastitidis* fermentează regulat lactoza, zaharoza și salicilina și sînt inactive față de manită, rafiloză și inulină.

Str. mastitidis face parte din grupa serologică B. Se izolează din mastita vacilor, dar și de la om, de pe mucoasa bucală sau vaginală, precum și de la alte animale decît vaca și anume: cobai, iepure, cal, porc.

Infecția experimentală. *Str. mastitidis* este apatogen pentru animalele de experiență. Inoculat pe cale intramamară produce însă mastita la vacile sau caprele cu lapte. El nu este un germen virulent capabil să pătrundă și să se multiplice în țesuturile vii și acțiunea sa patogenă se datorește, în mod exclusiv, înmulțirii sale în lapte, într-un lichid lipsit de mijloacele de apărare a țesuturilor și umorilor vii. El nu trece din cisternă și canalele laptelui în interstițiile glandulare sau în ganglionii limfatici aferenți. Inoculat pe alte căi decît cea mamară, calea subcutană sau intravenoasă sau administrat per os, streptococul mastitei nu poate produce infecția mamară, chiar dacă animalul, la care a fost inoculat, este în perioada de lactație, iar dozele administrate sînt masive. Infecția intramamară poate fi ea însăși negativă, dacă animalul de experiență este muls cu regularitate.

Reproducerea infecției a fost încercată de numeroși cercetători, în condiții variate. Astfel, Götze (1928), Reinhof (1930), Seelemann (1932, 1938) au administrat per os cantități enorme de lapte infectat, 30 la 50 l, traumatizînd uneori și mamela, fără a putea să reproducă infecția. Mulgerea vacilor cu mîinile infectate și fricționarea sfîrcurilor cu o cîrpă aspră nu au dus, de asemenea, la instalarea unei mamite streptococice (Seelemann). Baia prelungită a sfîrcurilor în lichide care conțin streptococi nu asigură transmiterea infecției. Viteii care au supt întîi la vaci bolnave nu transmit cu regularitate infecția, în timpul suptului, la vaci sănătoase. Pentru a explica aceste rezultate, s-a admis că în producerea mastitei streptococice naturale intervin pe lîngă streptococi și alți factori ca diverse tulburări hormonale sau chiar un virus filtrabil. Broodhurst, Cameron și alții au afirmat că au reușit să izoleze virusul respectiv dar cercetările lor nu au fost confirmate.

Infecția experimentală la vacile cu lapte reușește atunci cînd culturile sînt inoculate în glanda mamară prin canalul galactofor sau traversînd pielea. Injecția este urmată de o reacție termică (41°C sau mai mult), care apare după cîteva ore (6—12), de un aflux leucocitar în glandă și lapte și de o scădere importantă a secreției glandulare. Febra dispare chiar de a doua zi, însă prezența leucocitelor în lapte și scăderea cantitativă a acestuia persistă mult timp. Germenii inoculați se găsesc din abundență și constant în cartierul în care s-a făcut inocularea. De asemenea se pare că inocularea culturii în artera mamară reproduce boala.

Infecția naturală. Cercetările experimentale, ca și studiul condițiilor naturale de extindere a bolii arată că mamita streptococică este rezultatul unei infecții mamare, depunerii germenului la deschiderea canalului galactofor sau pe o soluție de continuitate a mamelei.

Trecerea germenilor din laptele unei vaci bolnave pe sfîrcul unei vaci sănătoase se face, în enorma majoritate a cazurilor, prin mîinile mulgătorilor. Viţeii care sug la mai multe vaci pot şi ei transmite boala. Răspîndirea laptelui unei vaci bolnave pe aşternutul pe care se va culca o vacă sănătoasă şi cu lapte poate, în unele cazuri, constitui un izvor de infecţie. Factorul principal de transmitere îl constituie însă mîna mulgătorului. Dovada cea mai bună, în sprijinul acestei afirmaţii, o constituie faptul că prin măsuri de igienă severă, dezinfectarea mîinilor sau a maşinii de muls, înainte de a începe mulsul fiecărei vaci, se împiedică extinderea infecţiei într-un grajd.

Infecţia mamelei este exogenă, adică se face cu streptococi veniţi dinafară. Intr-adevăr, se constată că infecţia este foarte rară la primipare şi că procentul cel mai mare de animale infectate se găseşte printre animalele care sînt în a 5—6-a perioadă de lactaţie.

Patogenie şi simptome. Germenii, depuşi pe sfîrcul ugerului vacii sănătoase, ajung în cisterna laptelui sau canalele conducătoare ale laptelui. Mediul şi temperatura fiind convenabile, bacteria începe să se înmulţească şi, de aici înainte, ea se va găsi constant în laptele sfertului infectat. Prezenţa ei în laptele unui cartier glandular, nu provoacă, în toate cazurile, o alterare evidentă a funcţiunilor mamare. Uneori infecţia nu se manifestă decît printr-o scădere slabă a secreţiei şi prin modificări calitative imperceptibile. Infecţia, în acest caz, nu poate fi descoperită decît printr-un examen de laborator — frotiuri şi mai ales culturi. De cele mai multe ori însă, multiplicarea streptococului agalactic în lapte, produce modificări evidente ale secreţiei ca şi ale glandei. Iniţial se observă o scădere a cantităţii de lapte, apoi laptele devine repede coagulabil, de culoare gălbuie şi conţine coaguli şi grunji. Recoltat într-un tub şi lăsat la temperatura camerei, timp de 24 de ore, el se separă în două straturi : unul inferior compus din coaguli de cazeină şi numeroase elemente albe şi unul superior, de aspectul zerului. Grăsimea, în strat subţire, pluteşte la suprafaţa lichidului. Ajuns în această fază de alterare laptele nu mai poate fi folosit şi cartierul atins este pierdut pentru producţia de lapte. O dată cu modificările calitative şi cantitative ale laptelui şi chiar înaintea apariţiei lor, glanda infectată prezintă şi alteraţii anatomice. La început se constituie un nodul, care, de multe ori, constituie primul semn al bolii. Acest nodul este situat, de regulă, în partea inferioară a glandei, lîngă sfîrc. Dimensiunile sale cresc încet şi, în cîteva luni, cea mai mare parte din glandă se atrofiază, devine cirotică, dură. Examenul necropsic al unui asemenea cartier pune în evidenţă prezenţa unui ţesut dur, dens, de culoare albă-murdară. Alături de regiuni sclerozate se întîlnesc însă şi zone de aspect normal, avînd culoarea roz-gri şi ţesutul moale, spongios.

Mamitele streptococice evoluează, de cele mai multe ori, sub o formă cronică. S-au semnalat însă, la animalele mai tinere, de 3—6 ani, şi infecţii acute. In aceste cazuri, se observă de la început, o tumefacţie a sfertului infectat. Inflamaţia este mai accentuată lîngă sfîrc decît spre părţile superioare. Mamela este dură, caldă, dureroasă. Ganglionii aferenţi sînt hipertrofiați. Starea generală modificată. Febra 40°C sau mai mult. Puls și respirație ușor accelerate, apetitul scăzut. Uneori pot apare artrite sau sinuzite. Laptele este de culoare galbenă avînd fie aspectul untului topit, fie al berii blonde. Aceste simptome durează 12—15 zile și sînt urmate apoi de o mamită cronică.

Modificările calitative și cantitative ale laptelui se datoresc multiplicării germenului, dar leziunile glandulare, cum sînt hiperplazia țesutului conjunctiv și țesutului mucos care căptușesc canalele laptelui, catarul purulent al epiteliului alveolar și al canaliculelor fine, par a fi datorite, pe de o parte, acțiunii iritante a germenilor, iar, pe de altă parte, unei acțiuni analoge exercitată de produșii chimici care se formează în lapte în cursul multiplicării germenilor. Laptele din glanda infectată este net acid, conține mai multă clorură de sodiu decît în mod normal, precum și o serie de produși de dezasimilație. Aceste diverse elemente irită țesutul glandular.

Evoluția infecției. Sfertul sau sferturile infectate se pot atrofia și secreția lactică este în acest caz definitiv pierdută. În alte cazuri nu se produc alterații anatomice ireparabile și glanda, deși infectată, își conservă parțial funcțiunile secretorii. Ea elimină constant streptococii prin lapte, dar acesta din urmă este secretat în cantități normale și calitățile sale nu-l fac inutilizabil. În aceste cazuri se pot produce și vindecări spontane. Acestea survin mai ales cînd în glandă se creează condiții defavorabile germenului, cum este lipsa secreției lactate. Profilactic, se recomandă ca vacile infectate să fie lăsate în repaus un timp mai îndelungat, pentru a asigura astfel sterilizarea glandei.

Diagnostic. Diagnosticul mamitei streptococice nu prezintă dificultăți cînd glanda și secreția sa prezintă toate modificările caracteristice bolii, ca noduli, atrofia glandei, scăderea cantitativă a laptelui și modificarea evidentă a proprietăților sale organoleptice. Precizarea diagnosticului este ajutată și de caracterul transmisibil al infecției. Un examen de laborator este, însă, chiar în aceste cazuri, necesar, el permițînd să se excludă infecții mamare de altă natură — infecția tuberculoasă, colibacilară, piogenică, stafilococică. Trebuie amintit că, spre deosebire de mamita streptococică, mamitele produse de germenii acestor din urmă infecții au un caracter inflamator evident. Ganglionii aferenți glandei sînt de exemplu, în mamitele tuberculoase, totdeauna hipertrofiați și inflamați, iar animalul reacționează la tuberculină. Mamitele stafilococice și chiar cele colibacilare au o evoluție acută și sînt însoțite de tulburări grave ale stării generale. Examenul clinic ne poate da deci indicații privind natura unei mastite.

Mamitele streptococice pot însă exista fără ca germenii să fie eliminați constant și abundent prin lapte, care poate fi astfel infecțios, în absența unor leziuni mamare și a unor tulburări secretorii ușor perceptibile. În aceste cazuri, este necesar atît un examen atent al proprietăților laptelui, cît și un examen de laborator.

Examenul proprietăților fizico-chimice ale laptelui. Laptele, provenind din sferturile infectate, prezintă unele modificări, care pot fi descoperite chiar de practicieni. Astfel, el este sărat, mult mai sărat decît laptele normal și acest caracter poate fi descoperit gustîndu-l. Unii practicieni afirmă că pot descoperi, de timpuriu, mamitele streptococice gustînd laptele. La fel, laptele secretat de un cartier infectat conţine flocoane, grunji. Aceştia se pot observa examinînd chiar direct laptele. Uneori însă aceste flocoane sînt aşa de mici încît nu pot fi văzute decît examinînd o picătură de lapte pe un fond închis sau centrifugîndu-l. Centrifugarea este bine să se facă în tuburi efilate şi gradate, putînd determina, în acest fel, cantitatea de flocoane conţinute de un volum fix de lapte. Laptele infectat conţine leucocite. Prezenţa şi numărul lor pot fi determinate prin procedeele curent folosite în hematologie. Prezenţa sau absenţa leucocitelor se determină şi prin conţinutul laptelui în catalază ; cu cît are mai multe leucocite cu atît conţine mai multă catalază şi deci o capacitate mai mare de a descompune apa oxigenată. Această activitate se poate pune în evidenţă amestecînd laptele cu apă oxigenată în proporţie de 1/4. În prezenţa catalazei, apa oxigenată se descompune, producîndu-se o spumă abundentă. Reacţia laptelui se schimbă, la fel, în cursul infecţiei şi această schimbare poate fi un criteriu de diagnostic. Pentru a putea preciza reacţia unui lapte, se poate folosi o soluţie alcoolică, 0,25%, de albastru de bromtimol. Cîteva picături din această soluţie colorează laptele în raport cu gradul său de ionizare. Laptele normal se colorează, în prezenţa indicatorului, în galben-verzui ceea ce corespunde unei reacţii neutre. Laptele alterat prin infecţie se colorează în albastru cînd este alcalin şi în galben net cînd este acid. O modificare a reacţiei sale într-un sens sau în altul indică un proces patologic.

Aceste diverse probe nu au o valoare absolută şi s-a stabilit coeficientul lor de valabilitate, raportat la examenul bacteriologic de laborator. Sînt infectate şi conţin streptococi 78% din probele catalazo-pozitive, 69% din cele cu proba sedimentului pozitivă, 48% din cele care conţin sare mai mult decît normal şi 31% din cele cu reacţii de pH schimbate.

În scopul diagnosticului diferenţial al mamitelor, Lesbouyries şi Adam (1932) recomandă ca laptele să fie muls în tuburi sterile şi păstrat apoi 24 de ore într-un loc răcoros ; aspectul lichidului, după acest interval de timp, este în relaţie cu natura infecţiei. Astfel, în infecţiile streptococice se constituie un coagul în partea inferioară a tubului, iar în cea superioară se găseşte zerul, care este mai mult sau mai puţin limpede.

În infecţiile stafilococice coagulul şi depozitul sînt reduse sau absente. în orice caz, ele dispar prin agitare; lichidul este opalescent şi spumos, la suprafaţă. În mamitele stafilo-streptococice există coagule şi în partea inferioară şi în cea superioară, iar între ele se găseşte zerul.

În mamitele colibacilare, laptele are, chiar în momentul recoltării din mamelă, un aspect particular. El se prezintă ca o serozitate gălbuie şi conţine în suspensie coagule anfractuoase.

În mamita produsă de *B. perfringens,* secreţia mamară este constituită dintr-un lichid roşiatic, fetid.

Infecţia cu *Corynebacterium pyogenes* transformă laptele sfertului infectat într-o masă purulentă, de culoare galbenă-verzuie, fetidă.

Examenul bacteriologic al laptelui constă din cercetarea microscopică a unui frotiu din lapte, colorat cu Gram şi din însămînţarea laptelui, recoltat în bune condiţii de asepsie, pe agar cu zaharoză sau agar cu sînge de bou.

Însămînţarea directă a laptelui dă rezultate negative cînd germenii sînt puţin numeroşi. Pentru a remedia acest inconvenient, se recomandă ca laptelui, recoltat în tuburi sterile, să i se adauge 0,5 ml dintr-o soluţie 0,5% bromcrezol purpur pentru 10 ml de lapte. Amestecul este lăsat 24—48 de ore la 37°C şi apoi examinat microscopic şi prin însămînţări pe agar în plăci.

Agarul, pentru însămînţarea laptelui suspect de infecţie streptococică, se prepară din bulion de viţel şi i se adaugă peptonă 2%, clorură de sodiu 0,5% ; pH = 7,2. Coloniile dezvoltate pe agar şi care sînt constituite de streptococi (control microscopic) sînt trecute în bulion şi pe agar înclinat cu sînge şi li se determină tipul căruia aparţin. Este de notat aici că din laptele sănătos, se pot izola unii streptococi ca *Str. lactis, Str. acidominimus, Str. bovis* etc., iar din laptele alterat alţi streptococi decît *Str. agalactiae.*

Diagnosticul bacteriologic al mamitei streptococice a dat naştere la numeroase cercetări, ceea ce a dus la multiple metode de examinare. Astfel, unii autori, însămînţînd pe geloză cu sînge 0,01 ml de lapte, nu au obţinut rezultate pozitive la animalele infectate, decît într-un procent de 5%. Rezultate bune se obţin cînd se fac două însămînţări pe geloză cu sînge : o însămînţare la sosirea probei, a doua după menţinerea probei la termostat.

Prima însămînţare, date fiind rezultatele slabe pe care le dă, poate fi suprimată, făcîndu-se culturi numai după ce proba a stat la termostat.

Se recomandă, în vederea diagnosticului bacteriologic al mamitei streptococice, şi următorul procedeu :

Laptele este recoltat în sticle care conţin 1,5 ml dintr-o soluţie 1/2 000 bromocrezol şi o soluţie de 10% de glucoză, totul într-un volum care, atunci cînd sticla se umple pînă la jumătate cu lapte, să aducă bromocrezolul într-o concentraţie finală de 1/20 000, iar glucoza într-o concentraţie de 1%.

Laptele, după recoltare, se pune la termostat şi însămînţările se fac după decolorarea amestecului, de cele mai multe ori după 24—48 de ore.

Pentru diagnosticul bacteriologic al mamitelor streptococice se mai poate folosi şi metoda de mai jos.

Laptele se recoltează în tuburi sterile (primele jeturi se aruncă). Ajuns la laborator i se adaugă nitrat de sodiu în proporţie de 1/20 000 şi tubul se lasă, pentru îmbogăţire, la termostat (12—20 de ore). (Nitratul de sodiu inhibă dezvoltarea bacteriilor Gram negative, în special a colibacilului, dar nu are nici o acţiune inhibantă asupra cocilor Gram pozitivi).

Apoi se însămînţează pe agar cu sînge, cu esculină (1%) şi cristal violet (1/500 000). Acest mediu pune streptococii în evidenţă în 97—98% din cazuri. Stafilococii nu pot fi izolaţi pe acest mediu, deoarece cristal violetul îi inhibă.

Pe acest mediu coloniile de *Str. dysagalactiae* şi de *Str. uberis* formează colonii brune-verzui, iar *Str. agalactiae* colonii gri-albastre, cu o zonă de hemoliză în jur.

În vederea diagnosticului precoce s-a încercat punerea în evidenţă a diverşilor anticorpi în serul sanguin al animalelor infectate. Rezultatele obţinute sînt nesigure. Serul sanguin nu conţine aglutinine şi nici precipitine specifice. Prezenţa anticorpilor antifibrinolitici este foarte rar constatată. Serul sanguin al animalului infectat, adăugat mediilor de cultură, nu modifică aspectul cultural şi morfologic al tulpinilor de streptococi izolate din mamită.

Profilaxie şi tratament. Infecţia se introduce, de regulă, într-un efectiv sănătos, prin animale bolnave. În consecinţă, se evită infecţia, evitînd introducerea vacilor bolnave. Un animal nou nu se introduce într-un grajd cu vaci sănătoase decît după un examen de laborator al laptelui tuturor sferturilor. Cînd acest examen nu este posibil, vaca adusă în efectiv va fi aşezată la un capăt al grajdului şi va fi mulsă la urmă.

In grajduri care conţin animale cu mamită se vor lua măsuri care să împiedice transmiterea infecţiei la vacile sănătoase. Vacile sigur bolnave se vor aşeza la un capăt al grajdului şi vor fi mulse totdeauna la urmă. În orice caz şi pentru toate vacile, mulgătorul îşi va dezinfecta mîinile, prin spălare cu apă şi săpun şi printr-un antiseptic oarecare, înainte de a începe a mulge o vacă. Cupele maşinilor de muls vor fi la fel dezinfectate cînd sînt trecute de la un animal la altul. Aceste simple măsuri de igienă dau rezultate bune dacă sînt aplicate cu stricteţe.

Asanarea crescătoriilor prin înlocuirea vacilor cu mamite prin animale tinere, provenind de la animale infectate, nu dă totdeauna rezultate pozitive. Se pare, într-adevăr, că vitele provenind din mame infectate dau un procent ridicat de mamite streptococice.

Tratamentul mastitei vacilor a fost încercat prin felurite procedee. Mastita se poate vindeca spontan şi fără nici o intervenţie medicală. Se observă vindecări spontane chiar în cursul unei perioade de lactaţie, dar, de cele mai multe ori, infecţia este jugulată în perioada de repaus a glandei, deoarece lipsa laptelui din glandă favorizează vindecarea. Un mijloc de tratament apropiat de acesta îl constituie mulgerea frecventă. În acest fel se împiedică stagnarea laptelui în glandă şi deci multiplicarea germenului.

Mijloacele biologice au fost folosite în prevenirea ca şi în tratamentul acestei infecţii, însă rezultatele obţinute sînt contradictorii. A priori, eficacitatea lor este puţin probabilă. Mastita streptococică evoluează în afara organismului şi în consecinţă principii obişnuiţi ai rezistenţei organice nu pot acţiona asupra lui. Chiar infecţiile mamare naturale nu conferă o stare de imunitate şi o infecţie instalată la un cartier nu împiedică infectarea celorlalte cartiere.

Unii autori au încercat un tratament al vacilor bolnave prin trei injecţii, făcute la interval de 2 zile, respectiv cu 2,5 şi 8 ml dintr-o suspensie de streptococi vii, obţinînd vindecări în proporţie de 83,3% şi 78,6% faţă de 15,6% şi 35,7% vindecări spontane. Alţi autori nu constată însă diferenţe între evoluţia bolii la animale tratate, faţă de cele netratate cu vaccin.

Unele rezultate s-au obţinut prin administrarea soluţiilor antiseptice direct în glanda mamară infectată. După descoperirea antibioticelor, antisepticele au fost înlocuite cu acestea, în special cu penicilina. Aceasta din urmă are o acţiune destructivă netă asupra streptococului mastitei şi nu este iritantă pentru ţesutul glandular. Cercetările, privind acţiunea curativă a penicilinei au stabilit doza minimă activă. Se constată că chiar 1 000 U.I. de penicilină, administrate prin canalul galactofor, în 500 ml de apă distilată, vindecă 47% din cartierele infectate. Cu doze mai mari, 15 000 şi 100 000 U.I., procentul vindecărilor este de 73%. Vindecările se obţin, de regulă, după prima injecție. Astfel, din 131 de cartiere tratate și vindecate cu diverse doze de penicilină, 59, adică 76%, s-au vindecat de la prima intervenție, 19 (14%) după două intervenții și 13 (10%) după trei intervenții. Controlul vindecărilor s-a făcut bacteriologic și se socotește vindecat un cartier care cel puțin 8 săptămîni după aplicarea tratamentului nu mai elimină, prin lapte, streptococi.

Alți autori tratează mastita la vaci cu doze mari de penicilină și care variază de la 100 000 la 200 000 U.I. Variațiile de doză sînt în raport cu cantitatea de lapte pe care o secretă o vacă și deci cu capacitatea glandei de a dilua antibioticul. La vacile care dau mult lapte se injectează 200 000 U.I. în patru reprize, la 24 de ore interval, cîte 50 000 U.I. pentru fiecare repriză; la vacile care dau lapte mai puțin se injectează 100 000 U.I. în patru reprize, cîte 25 000 U.I. de fiecare dată. Antibioticul este diluat în 50 sau 100 ml de apă distilată. Înainte de a injecta antibioticul se mulge tot laptele din sfertul sau sferturile infectate, dar se suprimă mulsul care urmează administrării antibioticului, pentru a împiedica eliminarea lui. Sfertul injectat cu penicilină se malaxează bine, pentru a distribui uniform medicamentul. Laptele glandei păstrează antibioticul în concentrații active pînă la 24 și chiar 48 de ore. Acțiunea terapeutică este netă mai ales în mastitele grave. Lipsa secreției glandulare permite o concentrație mărită a antibioticului și deci și o acțiune terapeutică mai mare. Penicilina nu produce scăderea laptelui. Rezultate foarte bune se obțin cu penicilina uleioasă, care se injectează în fiecare sfert, de trei ori, cîte 25 000 U.I., înglobate în 3 ml de ulei. Procentul vindecărilor este superior celui obținut cu ajutorul soluțiilor apoase de penicilină. In scopul simplificării operațiilor de tratament s-au preparat supozitoare cu penicilină, care au dimensiuni convenabile, pentru a putea fi ușor introduse prin canalul galactofor. Supozitorul eliberează treptat medicamentul, ceea ce înlesnește activitatea sa antibacteriană.

In mamitele acute și subacute, antibioticul produce o sterilizare completă a mamelei, în cele cronice însă sterilizarea este mai puțin sigură și, în aceste cazuri, infecția poate reapare în a doua perioadă de lactație.

Alte streptococii animale

Gurma calului și mamita streptococică a vacilor sînt două streptococii cu simptome clinice bine definite, stau sub dependența cvasitotală a germenului și caracterele lor infecțioase și contagioase sînt evidente. Factorii adjuvanți pot agrava evoluția acestor infecții, dar nu pot decide de izbucnirea lor. Există unele infecții streptococice în care germenul joacă un rol secundar; el se grefează pe stări morbide preexistente și acestea decid de instalarea și multiplicarea streptococului, căci, în absența acestor stări, infecția nu se produce.

Avortul la iapă are multe cauze, dintre care unele de natură infecțioasă. În avortoni s-au putut pune în evidență diverse specii bacteriene și, în unele cazuri, streptococi, în special *Str. genitalium*. Aceștia, după cercetările lui Pop și Marinov, au putut fi izolați de la 10,66% din avortonii cercetați. Nu se poate spune, însă, dacă streptococii, ca și alți germeni izolaţi din avortoni, sînt ei înşişi cauza primară a procesului patologic. Se pare că infecţiile bacteriene se grefează pe anumite stări morbide, care decurg dintr-o alimentaţie incompletă a iepelor mamă. Această ipoteză nu împiedică însă luarea măsurilor obişnuite pentru preîntîmpinarea extinderii infecţiei — izolare, dezinfecţie etc.

În piosepticemie sau **paralizia mînjilor,** streptococii se izolează din leziunile purulente situate în pulmon, articulaţii şi alte organe, în proporţii care variază de la 20 la 50%. Streptococii pot fi găsiţi singuri sau în asociaţie cu alte bacterii : salmonele, colibacili etc. Infecţia bacteriană, aşa cum arată şi flora variată care se găseşte în leziune, nu pare a fi primară. Germenii se grefează pe stări patologice, care derivă, în special, dintr-o necorespunzătoare alimentaţie a iepelor-mamă, sau din menţinerea mînjilor în condiţii neigienice, grajduri prea călduroase, cu curenţi de aer, de exemplu. Măsurile obişnuite de profilaxie a bolii microbiene nu dau rezultate. Vaccinurile nu sînt, în regulă generală, eficace.

Vaginita contagioasă a vacilor este produsă, după unii cercetători, de un streptococ, după alţii de un virus filtrabil. Streptococul se izolează frecvent de pe mucoasa vaginală a vacilor cu leziuni inflamatorii, ceea ce, de altfel, nu este de mirare, dar încercările de a transmite infecţia, cu ajutorul culturilor, astfel obţinute, nu dau totdeauna rezultate pozitive. Caracterul extrem de contagios al vaginitei nu sprijină, la fel, natura streptococică a vaginitei.

Vaginita este extrem de contagioasă şi este răspîndită în foarte multe ţări. În ţara noastră, ea a fost diagnosticată şi cercetată de Isopescu (1948), Gluchovschi şi colaboratorii (1949). Formele acute de boală se manifestă, de obicei, printr-o congestie a mucoasei vaginale, însoţită de secreţie şi de hemoragii punctiforme în submucoasă. Simptomele pot trece neobservate. Uneori se observă şi inflamaţia foliculilor limfatici, care apar sub formă de noduli proeminenţi la suprafaţa mucoasei. Isopescu a întîlnit cazuri care se manifestă printr-o erupţie veziculară, mucoasa vaginală avînd aspectul de reţea sau de fagure, iar Gluchovschi a descris unele forme grave care prezentau ulceraţii întinse ale mucoasei vaginale. În formele cronice se găsesc noduli pe mucoasa vaginală.

Histologic, leziunile din vaginita contagioasă constau din hipertrofia foliculilor limfatici şi infiltraţia mucoasei cu limfocite şi histocite.

Infecţia se transmite prin montă, dar şi prin contact. Animalele tinere se infectează, de exemplu, prin contact. Urmările cele mai grave ale vaginitei ar fi, după unii autori, sterilitatea. Animalele infectate nu sînt fecundate şi monta se repetă de mai multe ori. Căldurile se repetă la 3—6 săptămîni.

Profilaxia se face prin măsuri sanitare, care constau din eliminarea de la montă a vacilor infectate şi fecundarea lor prin însămînţări artificiale, castrarea taurilor neautorizaţi, supravegherea montei şi examinarea vacilor înainte de montă.

Tratamentul se face cu antiseptice (creolină soluţie 0,5—2%), chinosol 0,25%, soluţie Lügol, glicerină iodată etc.,). Vasin (1950) obţine rezultate bune cu fenotiazină. Nestorenko (1953) obţine vindecări injectînd în muşchii vaginali penicilină 300 000 U.I.

Streptococia păsărilor

Streptococii pot fi întîlniţi şi la păsări; infecţia are o evoluţie acută sau subacută şi caracter enzootic; apare în crescătoriile în care există deficienţe însemnate de ordin alimentar sau igienic.

Streptococia păsărilor a fost semnalată în diverse ţări ca Germania (Damann şi Magnegold, 1905), Danemarca (Magnusson, 1910), în Statele Unite (Hudson, 1933), în Anglia (Buxton, 1952), în R.P.R. (Ungureanu şi Greceanu, 1955). A fost descrisă de Sopikov în manualul lui Svinţov (1951).

Date epizootologice. Ungureanu şi Greceanu descriu o enzootie apărută într-o crescătorie în care păsările primeau o hrană necorespunzătoare, beau o apă stătută, iar igiena era cu totul neglijată. Deficienţele alimentare erau destul de grave, ceea ce reiese şi din faptul că păsările care mureau în timpul nopţii erau găsite dimineaţa, în parte, devorate. Această tendinţă de a ciupi şi consuma cadavrele pare a fi datorită şi faptului că păsările erau hrănite cu carne de la caii sacrificaţi. Consumul cadavrelor a contribuit la întinderea infecţiei. După unii autori, infecţia s-ar transmite şi prin căpuşe (Svinţov).

Simptome. Boala se poate întîlni la tineret sau la păsări adulte. Ea evoluează acut sau subacut. Simptomul principal îl constituie o stare de apatie şi somnolenţă şi, pentru acest motiv, infecţia mai este numită şi „boala somnului". Pasărea doarme într-un colţ, avînd penele zbîrlite şi aripile căzute; deranjată se deplasează somnambulic, fără o ţintă precisă. Deplasarea este uneori greoaie, pasărea merge greu, atingînd, frecvent, cu articulaţia tibio-tarsiană, pămîntul. Boala durează de la cîteva ore la 3 zile şi sfîrşeşte constant cu moartea. Procentul de morbiditate poate atinge cifra de 50%.

Modificări anatomice. În formele acute, care evoluează adeseori în cursul nopţii, pasărea fiind găsită moartă dimineaţa, se găsesc, la autopsie, leziunile unei septicemii. În formele subacute se pot constata epanşamente serofibrinoase în cavitatea pericardică şi peritoneală, puncte hemoragice în ficat, necroze miliare în ficat şi splină, congestii şi hemoragii pe mucoasa intestinală (duoden şi cec), congestia meningelor etc.

Etiologie. Din organele păsărilor moarte de streptococie se izolează constant un streptococ beta hemolitic, care în frotiurile din organe este încapsulat. El are aspectele morfologice şi proprietăţile biochimice şi de patogenitate ale speciei *Str. pyogenes animalis* (Ungureanu şi col.). Este patogen pentru şoarece şi păsări. La acestea din urmă, germenul produce o infecţie asemănătoare cu cea naturală — atît pe cale parenterală, cît şi per os şi prin depunerea culturii în fosele nazale.

Profilaxie şi tratament. Măsurile generale şi igienice şi o alimentaţie corectă constituie mijloacele prin care boala poate fi evitată. Păsările bolnave trebuie izolate şi tratate cu sulfamide sau antibiotice. Folosirea sulfamidelor şi antibioticelor în scop preventiv poate fi recomandată. Vaccinarea este probabil ineficace. Filtratele de cultură ar avea, după unii autori, valoare imunizantă.

Nr.	SPECIA	ECOLOGIE	rologică	Comportarea față de globu-	Morfologie și afinități
		om			
24	**Str. equinus** (Andrewes și Horder, 1906)	Intestin și materii fecal la cal. Se găsește probabil și la bovidee și om	Idem	Hemoliza slabă sau de loc	Lanțuri, un lungi, mai în bulio
25	**Str. apis** Maasen în Lehmann și Neumann, 1927	În larvele albinelor moarte de loca europeană			Coci izolați pați cîte doi în lanțuri sc Gram +
26	**Str. anaerobus** Krönig, 1905	În cavitățile naturale ale omului și animalelor, mai ales în vagin		Nehemolitic	Coci de 0,8 lanțuri. Gra
27	**Str. putridus** (Schottmüller, 1910) Prévot, 1933	În cavitățile naturale la om și animale; în septicemii putride, bronho-pneumonii		Nehemolitic	Coci de 0, grupați în la lungi. Gran
28	**Str. foetidus** (Veillon, 1898) Prévot, 1933	Foarte răspîndit în cavitățile naturale umane și animale		Nehemolitic	Coci de 0,8 lanțuri scurt tetrade. Gra
29	**Str. micros** Prévot, 1933	Cavitățile naturale ale omului și animalelor		Nehemolitic	Coci de 0,2- în lanțuri lu Gram +
30	**Str. parvulus** Weinberg, Nativelle și Prévot, 1937	Se găsește, foarte rar, în aparatul respirator (pulmon)			Coci de 0,3- în lanțuri scu Gram +
31	**Str. intermedius** Prévot, 1925	Frecvent în aparatele pulmonar și genital		Nehemolitic	Coci de 0,5—0,7μ Gram +
32	**Str. evolutus** Prévot, 1933	În cavitățile naturale la om			Coci de 0,7—

IMPORTANTE AL

mpor- ea față globu-	Morfologie și afinități	Aspect cultural		Activitatea	gela- ică	NH$_3$ din e
		crește la [illegible]				
emoliza abă sau de loc	Lanțuri, uneori lungi, mai ales în bulion				—	De regulă —
	Coci izolați grupați cîte doi sau în lanțuri scurte. Gram +	Tulburare puțin intensă	Colonii mici, rotunde, lucioase friabile; gri			
hemo- litic	Coci de 0,8μ, în lanțuri. Gram +	Depozit. lichidul limpede	Colonii lenticulare în geloză profundă			
hemo- itic	Coci de 0,8μ, grupați în lanțuri lungi. Gram +	Tulbure, miros fetid Pigment negru	Colonii lenticulare de 1—3 mm în geloză profundă			
hemo- itic	Coci de 0,8μ, în lanțuri scurte sau tetrade. Gram +	Depozit. Lichidul limpede, gaze	Colonii lenticulare în geloză profundă			
hemo- itic	Coci de 0,2-0,4μ, în lanțuri lungi. Gram +	Tulbure. Aspect pulverulen	Colonii lenticulare în geloză profundă			
	Coci de 0,3-0,4μ, în lanțuri scurte. Gram +	Tulbure și depozit mucos	Colonii lenticulare în geloză profundă ce se înnegresc prin învechire			
hemo- itic	Coci de 0,5—0,7μ, Gram +	Tulbure omogen	Colonii lenticulare în geloză profundă			
	Coci de 0,7—0,8μ	Granule în suspensie	Colonii lenticulare și rotunde în geloză profundă			

Alte streptococii. Streptococii au fost izolați, de la cele mai diverse specii animale, din cazuri sporadice de pneumonii (cal, cîine, oaie etc.), din infecții ale organelor genitale, din inflamații ale intestinului etc. Diateze hemoragice de natură streptococică au fost întîlnite la cîini. Avorturi au fost descrise la diverse specii. Avakunoff (1938) descrie avorturi în masă la scroafe. Colecții purulente, de natură streptococică, au fost găsite la cele mai variate specii. Plăgile de la animale sînt frecvent infectate cu streptococi aerobi sau anaerobi. Tratamentul acestor infecții se face cu bune rezultate, cu penicilină. Draci (1952) în pneumonia diplococică a viteilor, obține, de exemplu, vindecări, în proporție de 100%, prin administrarea penicilinei în doze repetate și variabile, în raport cu gravitatea cazului — 50 000 — 100 000 U.I. Temperatura revine la normal după a doua injecție și vindecarea se obține, de regulă, prin trei injecții.

Streptococi anaerobi

Specia anaerobă cea mai importantă este *Str. putridus;* acesta infectează plăgile mari și se întîlnește mai frecvent la om în rănile de război. Poate fi izolat din pneumoniile gangrenoase, salpingite purulente, septicemii puerperale, apendicite, endocardite etc. Virulența germenului se pierde prin trecere pe medii de cultură. Tulpinile de curînd izolate pot omorî cobaiul într-un timp foarte scurt — 12 ore — producîndu-i o gangrenă gazoasă.

Prévot a izolat, din 29 de cazuri de pneumonie sau septicemie puerperală, 13 tulpini de streptococi anaerobi, pe care i-a grupat în cinci specii, și anume: *Micrococcus foetidus* (2 tulpini), *Streptococcus anaerobius* (două tulpini), *Str. putridus* (trei tulpini), *Str. anaerobius micros* (două tulpini) și *Str. intermedius* (patru tulpini). Primele trei specii produc gaze, cele două din urmă nu produc. Streptococii gazogeni se prezintă, în secrețiile purulente, cît și pe mediile solide, ca diplococi sau lanțuri scurte. În mediile lichide, *Micrococcus foetidus* are același aspect, în timp ce *Str. anaerobius* și *Str. putridus* formează, în aceste medii, lanțuri lungi.

Streptococii negazogeni sînt de talie mică — *Str. micros,* 0,25 — 0,4 microni, iar *Str. intermedius* 0,6 microni.

Streptococii anaerobi se dezvoltă în medii simple; multiplicarea lor este favorizată de ser, sînge sau glucoză. Bulionul cu carne, ca și geloza Veillon permit dezvoltarea unor colonii care devin vizibile cu ochiul liber după 48 de ore și ating diametrul de 1 mm în 8—10 zile. În bulionul cu carne se obține o difuzare a germenilor în tot volumul însămînțat, precum și un depozit. Temperatura optimă este de 37°C. Nu se dezvoltă sub 20°C.

Streptococii gazogeni produc, în aceste medii, gaze cu miros neplăcut. În general, streptococii anaerobi fermentează glucoza, maltoza, levuloza; nu au fermenți hemolitici și nici gelatinolitici.

Streptococi nepatogeni

În natură, pe lîngă streptococii patogeni, se întîlnesc frecvent, specii nepatogene. Asemenea specii se găsesc în lapte și derivatele sale, în cavitățile naturale de la om și animale, în materii fecale etc. Unele din aceste specii sînt utile și sînt folosite în industrii, în special în industria laptelui. Caracterele esențiale ale acestor specii sînt date în tabelul 8.

BIBLIOGRAFIE

AGAPI C. — Contribuţii la studiul streptococilor hemolitici izolaţi în scarlatină, *Arch. Roum. Path. Expér.*, 1936, 9, p. 351.

ANGELESCU E. şi col. — Acţiunea sulfatiazolului asupra ritmului de dezvoltare şi aspectului morfologic al cîtorva tulpini de streptococ hemolitic. *Studii şi cercetări de Inframicrobiologie*, 1951, 2, p. 331.

ANDREWES şi HORDER — *Lancet*, 1906, p. 712.

AYRES şi MUDGE. — *J. inf. Dis.* 1922, 31, p. 40.

BALDOVIN C. şi col. — Tipurile serologice de streptococ hemolitic întîlnite în epidemia de scarlatină din Bucureşti în anul 1950, *Studii şi cercetări de inframicrobiologie*, 1951, 2, p. 299.

BĂLTEANU L. şi AGAPI C. — Structura antigenică a streptococilor gurmoşi şi a streptococilor hemolitici scarlatinoşi, *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 114, p. 754.

BONGERT J. — Gurma calului. *H. der Path. Mikroorg*, 1913, 6, p. 197.

BROCQ-ROUSEAU, FORGEOT şi URBAIN A. — Studii asupra streptococului gurmos. *Ann. Inst. Pasteur*, 1922, 36, p. 646, 1923, 37, p. 322, 1923, 37, p. 1034, 1924, 38, p. 598 şi 1925, 39, p. 45.

BROWN J. H. — Monografie publicată de *Rockefeller Inst. Med. Rev.* 1919, 909.

CANTACUZINO I. şi BONCIU O. — Puterea aglutinantă a serului de la iepurii inoculaţi cu produse scarlatinoase, *C. R. Soc. Biol.* 1925, 92, p. 725.

CANTACUZINO I. şi BONCIU O. — Modificări suferite de alte bacterii decît streptococul prin contactul cu produse scarlatinoase filtrate, *C. R. Soc. Biol*, 1927, 96, p. 1443.

CANTACUZINO I. şi BONCIU O. — Cîteva particularităţi ale produselor scarlatinoase filtrate, *C. R. Acad. Sciences, Paris*, 1927, 184, p. 1678.

COBURN F. şi PAULI H. — Studiul relaţiilor dintre tulpinile de Str. hemolyticus din procesele reumatice, *J. Exp. Med.* 1932, 54, p. 633.

DICK G. F. şi DICK G. H. — *J. Am. Med. Ass.*, 1921, 77, p. 782, 1924, 82, p. 265 şi 83, p. 84, 1925, 84, p. 802 şi p. 1477.

DIMBOVICEANU A. şi col. — Cercetări asupra streptolizinei la cîteva tulpini de streptococ. *Analele Academiei R.P.R. de ştiinţe medicale*, 1950, 2.

DIMBOVICEANU A. şi col. — Cercetări asupra fibrinolizinei la cîteva tulpini de streptococ. *Analele Academiei R.P.R. de ştiinţe medicale, 1950, 2.*

DURAN-REYNALS — *J. Exp. Med.*, 1933, 58, p. 161.

FABER V. şi ROSENDAL K. — Hialuronidaza streptococică, *Acta Path. Microbiol. Scandinavica*, 1955, 37, p. 286.

GLUHOVSCHI N., RAUCHBACH C. şi TALE-RAHOVEANU A. — Observaţii asupra epizootiei de vaginită granuloasă contagioasă a taurinelor din jud. Arad. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1948, 59, p. 522.

IONESCU-MIHAEŞTI şi col. — Contribuţiuni la studiul streptococului hemolitic, *Acad. R.P.R. Bul. ştiinţific B. ştiinţe medicale*, 1949, 1, nr. 4, p. 397.

IONESCU-MIHAEŞTI şi col. — Contribuţiuni la studiul streptococului hemolitic.

II. Acţiunea sulfatiazolului asupra thymonucleazei, *Acad. R.P.R., Bul. ştiinţific B. ştiinţe medicale,* 1949, 1, p. 693.

ISOPESCU I. — Extensiunea şi profilaxia vaginitei contagioase a bovideelor, *Revista de medicină veterinară şi zootehnie,* 1948, nr. 7—8.

JIVOIN P. şi col. — Cercetări asupra transmiterii experimentale a gurmei calului. *Pr. Epizoot. Microbiologie,* 1955, 3, p. 17.

KAPRIN M. A. — Tratamentul cailor bolnavi de gurmă cu acaprin, *Veterinaria,* 1949 nr. 8, p. 62.

LANCEFIELD R. — Studii asupra structurii antigenice a streptococilor, *J. Exp. Med.* 1925, 42, p. 377 şi p. 397; 1928, 47, p. 91, p. 469 şi 481, 48, p. 769, p. 843, şi p. 857, 1933, 57, p. 577, 1934, 59, p. 441 şi 1938, 67, p. 25.

LESBOUYRIES şi ADAM — Diagnosticul etiologic al mamitei streptococice la vacă, *Bull. Acad. Vét. de France* 1932, p. 221.

MANNINGER R. — Asupra etiologiei gurmei, *Acta vet. Hung.* 1949, 1. p. 73.

MINETT C. F. — Lucrările celui de al XII-lea Congres Internaţional de Medicină Veterinară, 1934, 2, p. 511. *J. Hyg. Cambr.,* 1936, 35, p. 504.

MUŞETESCU M. şi BALACI P. — Prevenirea şi tratamentul mamitei streptococice la vacă, *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1953, nr. 12, p. 51.

NEILL M. şi MALLORY B. B. — *J. Exp. Med.,* 1926, 44, p. 241.

NOCARD E. şi MOLLEREAU — Asupra mamitei contagioase a vacilor cu lapte. *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 109.

ORLA JENSEN — The lactic Acid Bacteria. 1919.

OPRESCU A. — Cercetări clinice şi experimentale asupra tusei contagioase a calului. *Arch. Vet.,* 1938, 30, nr. 6, p. 8.

PATTISON A. I. şi col. — Clasificarea tipurilor de streptococi din grupa B izolaţi în Anglia de la bovine şi om prin metoda precipitării a lui Lancefield, *J. Path. a. Bact.* 1955, 69, p. 43 şi p. 51.

PANKRATOV A. I. şi TRETIAKOVA A. A. — Date noi în legătură cu agentul patogen al gurmei cailor, *Veterinaria,* 1953, 9, p. 11.

PARAKIN V. C. — Tratamentul şi evoluţia gurmei în funcţie de condiţiile de hrănire şi întreţinere, *Veterinaria,* 1953, 10, p. 41.

PIKE M. — *J. Inf. Dis.,* 1948, 58, p. 1

PRÉVOT A. R. — *Ann. Inst. Past.,* 1925, 39, p. 439.

PRÉVOT A. R. — Studii de sistematică bacteriană. I. Legi generale. Coci anaerobi, *Ann des. Sc. Nat. botanique,* 1933, serie 10, vol. 15, p. 23—260.

REABOVA S. G. — Dezinfecţia în gurmă, *Veterinaria,* 1956, 6, p. 68.

RICHOU R. — Folosirea antibioticelor în tratamentul mamitelor la bovidee, *Off. Intern. des Epizooties,* 1953, 40, p. 224.

SACHELARIE V. — Imunizarea activă în gurmă, *Arch. Vet.* 1922, 16, p. 63

SAND şi JENSEN — *Deut. Z. f. Tiermed,* 1888, 13, p. 436.

SCHOTTMÜLLER H. — *Munch. med. Wschr.* 1903, 50, p. 849 şi p. 909.

SCHÜTZ — *Arch. f. Tierheilk,* 1888, 14.

SEELEMANN M. — Apariţia şi comportamentul biologic al streptococilor patogeni pentru animale şi om în lapte, *Zbl. f. Bakt.,* 1939, 144, p. 174.

SEELEMANN M. şi NOTTBOHM H. — *Zbl. f. Bakt.,* 1940, 146, p. 142.

SEELEMANN M. — *Deut. tierärzt Wschr.,* 1942, 50, p. 8 şi p. 48.

SEELEMANN M. şi FLINT A. — Cercetări privind diferenţierea dintre Str. lactis şi enterococi. Grupa A și C a streptococilor hemolitici, *Zbl. f. Bakt.,* 1943, 149, p. 129 și 236.

SEELEMANN M. — Biologie der Streptokokken, *Hans Carl, Nürnberg,* 1954.

SLANETZ și NAGHSKI — Studii asupra streptococilor mamitei bovine, *J. Inf. Dis.* 1940, 66, p. 80.

STABLEFORTH A. W. — *J. comp. Path.,* 1932, 14 p. 185.

STABLEFORTH A. W. — *J. Path. a. Bact.,* 1937, 45, p. 263 și 1938, 46, p. 21.

SUHACI I. — Infecțiunile streptococice la porc. Creșterea animalelor, 1950, nr. 4, p. 72.

SVINȚOV — Bolile păsărilor, *Moscova,* 1951.

TACU D. — Observații asupra antivirusului gurmos în tratamentul cailor bolnavi de gurmă, *Arch. Vet.* 1937, 29, p. 25.

TILLETT și GARNER — *J. Exp. Med.,* 1933, 58, p. 485.

TODD E. V. — *J. Exp. Med.,* 1932, 55, p. 267.

TUDORIU C., UNGUREANU C. și POPOVICI V. — Anchetă bacteriologică asupra frecvenței streptococilor beta hemolitici în căile respiratorii anterioare la cabaline, *Pr. epizoot. Microbiol.* 1955, 3, p. 26.

VASIN V. A. — Fenotiazina în vaginita infecțioasă a vitelor cornute mari, *Veterinaria,* 1950, nr. 2.

VERGE J. — Contribuțiuni la studiul antivirusului gurmos, *Réc. Méd. Vét.* 1945, 121, p. 65.

ZABLOTKI M. T. — Tratamentul gurmei calului, *Veterinaria,* 1949, nr. 5, p. 29.

GRUPA BACTERIILOR ÎN FORMĂ DE BASTONAŞ DREPT

SUBGRUPA BACTERIILOR NESPORULATE ŞI GRAM NEGATIVE

Subgrupa bacteriilor nesporulate şi Gram negative cuprinde un număr mare de genuri şi specii. O parte din aceste genuri şi specii şi anume genurile *Escherichia, Klebsiella, Aerobacter, Salmonella, Proteus* şi *Shigella* au comun între ele habitatul: toate se găsesc în intestin şi pentru acest motiv constituie împreună, în clasificarea din determinatorul Bergey, o familie, şi anume: Familia *Enterobacteriaceae* sau a bacteriilor intestinale.

Termenul de bacterie intestinală este frecvent folosit şi el se aplică speciilor din genurile amintite mai sus. O schemă a clasificării bacteriilor intestinale este dată mai jos. O poziţie specială, în cadrul bacteriilor intestinale, o ocupă bacteriile coliforme, cu care începem de altfel studiul bacteriilor intestinale.

CARACTERELE GENERALE ALE BACTERIILOR COLIFORME

Bacteriile coliforme sînt cuprinse în trei genuri, şi anume:

genul *Escherichia,* cu specia tip *Esch. coli*
genul *Aerobacter,* cu specia tip *A. aerogenes*
genul *Klebsiella,* cu specia tip *Kl. pneumoniae*

Cele trei genuri se disting între ele în special prin proprietăţile lor biochimice. Proprietăţile distinctive principale sînt următoarele:

1. Genul *Escherichia*

Roşul de metil	+
Voges Proskauer	—
Citrat de sodiu	—

Nu atacă de regulă adonita şi inosita.

2. Genul *Aerobacter*

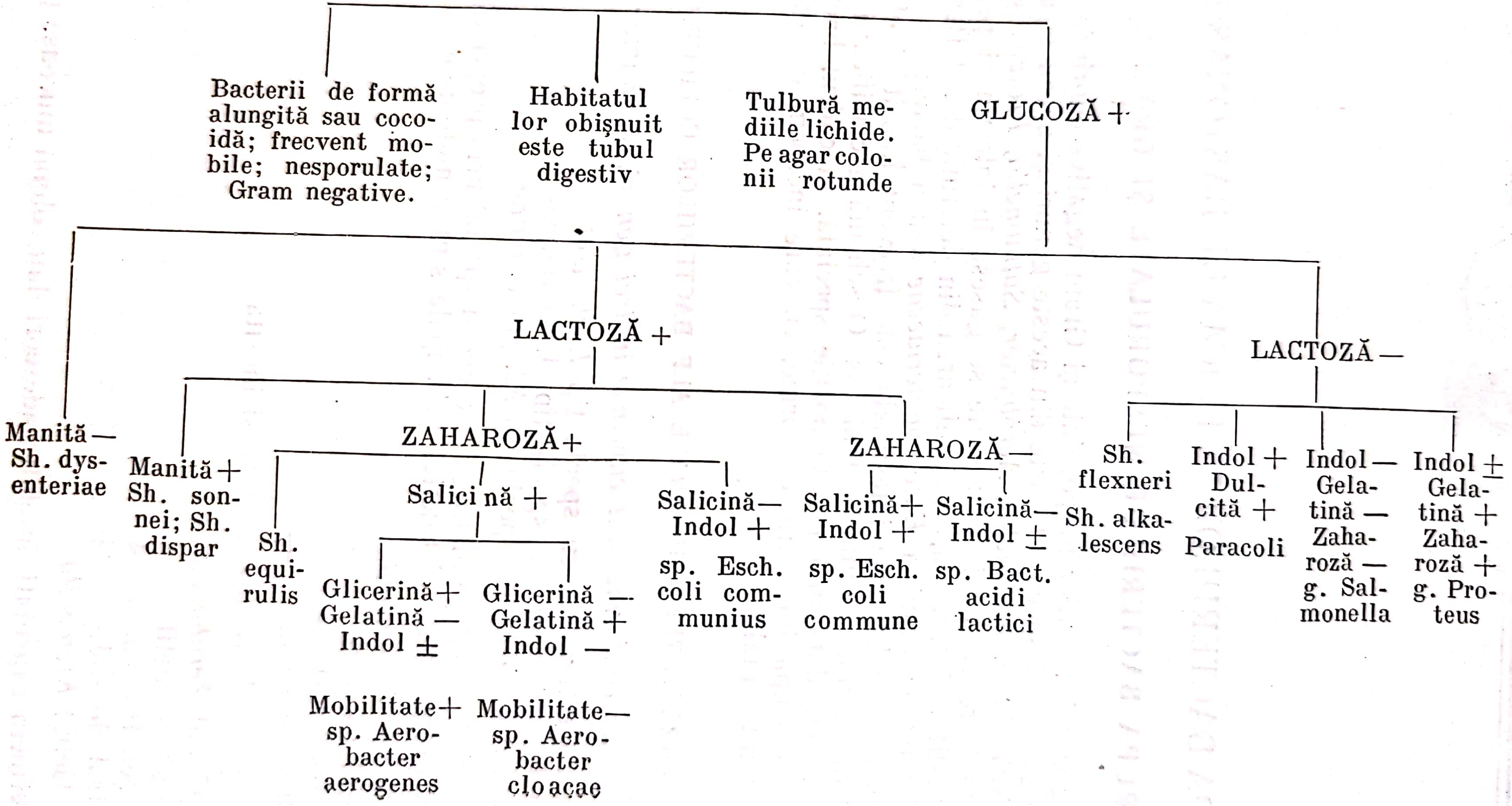
Roşul de metil	—
Voges Proskauer	+
Citrat de sodiu	+

3. Genul *Klebsiella*

Germeni capsulaţi, imobili; adeseori dau colonii mucoase pe agar.

Tabelul 9

Schema clasificării bacteriilor intestinale


Bacterii de formă alungită sau cocoidă; frecvent mobile; nesporulate; Gram negative.
Habitatul lor obişnuit este tubul digestiv
Tulbură mediile lichide. Pe agar colonii rotunde
GLUCOZĂ +
Manită — Sh. dysenteriae
LACTOZĂ +
Manită + Sh. sonnei; Sh. dispar
ZAHAROZĂ +
Sh. equirulis
Salicină +
Glicerină + Gelatină — Indol ±
Mobilitate + sp. Aerobacter aerogenes
Glicerină — Gelatină + Indol —
Mobilitate — sp. Aerobacter cloacae
Salicină — Indol +
sp. Esch. coli communius
ZAHAROZĂ —
Salicină + Indol +
sp. Esch. coli commune
Salicină — Indol ±
sp. Bact. acidi lactici
LACTOZĂ —
Sh. flexneri
Sh. alkalescens
Indol + Dulcită +
Paracoli
Indol — Gelatină — Zaharoză —
g. Salmonella
Indol ± Gelatină + Zaharoză +
g. Proteus

Roşul de metil, adeseori —
Voges Proskauer + şi mai rar —
Citrat de sodiu, de regulă +
Nu produc indol
Atacă adonita şi inosita.

Reacţia roşului de metil se consideră pozitivă cînd se produce o acidifiere şi, în consecinţă, o colorare în roşu în momentul cînd se adaugă indicatorul (cinci picături din soluţia: 0,1 g de roşu de metil în 300 ml de alcool şi 500 ml de apă distilată), în 5 ml de cultură de 2—4 zile, la 37°C, în apă peptonată cu glucoză şi fosfat (acelaşi mediu ca şi pentru reacţia Voges-Proskauer). Reacţia este negativă cînd indicatorul roşu de metil, colorează mediul în galben, ceea ce corespunde unei producţii de alcali. Bacteriile din genul *Escherichia* dau o reacţie pozitivă, iar cele din genul *Aerobacter* o reacţie negativă. Acest mod diferit de comportare se explică astfel: ambele grupe de bacterii fermentează glucoza cu producţii de acid carbonic şi hidrogen, însă bacteriile din grupa *Aerobacter* descompun, mai tîrziu, acizii organici, luînd astfel naştere carbonaţi bazici care alcalinizează mediul. Acest proces nu este produs de colibacili şi de aceea mediul rămîne acid şi reacţia pozitivă.

Reacţia Voges-Proskauer sau reacţia acetilmetilcarbinolului este pozitivă cînd, adăugînd o soluţie de KOH, mediul în care s-a cultivat germenul se înroşeşte, luînd culoarea unei soluţii de eozină. Înroşirea se datoreşte faptului că acetilmetilcarbinolul dă cu potasa şi, probabil, cu un compus al mediului (derivaţi ai guanidinei din peptonă), culoarea roz. Acetilmetilcarbinolul rezultă din oxidarea 2, 3 butilenglicolului (CH_3 CHOH.CO.CH_3) de către bacteriile din genul *Aerobacter*. Bacteriile din grupa coli nu produc această oxidare şi dau reacţie negativă. Mediul folosit pentru executarea reacţiei conţine: peptonă 5 g, glucoză 5 g, fosfat de potasiu (PO_4 K_2H) 2 g, apă distilată 1 000 ml. Reacţia se execută astfel: 5 ml de cultură de 24—48 de ore la 37°C sau de 5 zile la 30°C, se amestecă cu 5 ml de soluţie de 10% de hidrat de potasiu şi totul se lasă pînă la 6 ore la termostat; timp în care tuburile sînt examinate de mai multe ori.

Proba folosirii citratului de sodiu. Bacteriile din genul *Aerobacter* se deosebesc de cele din genul *Escherichia* şi prin aceea că pot folosi citratul de sodiu ca unică sursă de carbon.

Pentru a pune în evidenţă utilizarea sau neutilizarea citratului de sodiu, se foloseşte mediul lui Koser, care conţine:

fosfat de sodiu amoniacal	1,5 g
fosfat monopotasic	1 g
sulfat de magneziu	0,2 g
citrat de sodiu cristalizat	2,5 — 3 g
apă distilată	1 000 ml

În acest mediu, bacteriile din genul *Escherichia*, nu se dezvoltă, ele neputînd folosi ca sursă de carbon citratul de sodiu. Dimpotrivă, bacteriile din genul *Aerobacter* îl folosesc şi se dezvoltă, după o incubaţie de 3—4 zile la termostat.

Numeroşi autori au introdus drept criterii de clasificare a germenilor din grupa coli modul lor de comportare faţă de diverse substanţe hidrocarbonate, producţia de indol, mobilitate etc., creînd, pe baza acestor criterii, trei specii în genul *Escherichia* şi două în genul *Aerobacter,* aşa cum se vede în tabelul 10.

Tabelul 10

Proprietăţile esenţiale şi distinctive ale speciilor din genul Escherichia şi Aerobacter

	Lactoza	Zaharoza	Salicină	Glicerină	Indol	Gelatină	Mobilitate
Esch. coli var. commune	+	−	+	−	+	−	+
Esch. coli var. acidi lactici	+	−	−	−	±	−	+
Esch. coli var. communius	+	+	−		+	−	+
Aerobacter aerogenes sau Esch. coli var. aerogenes	+	+	+	+	±	−	−
Aerobacter cloaceae sau Esch. coli var. cloacae	+	+	+	−	−	+	+

Genul *Escherichia* Castellani şi Chalmers, 1919

Escherichia coli (Migula) Castellani şi Chalmers, 1919

Sinonime: *Bacterium coli commune* Escherich, 1885.
Bacterium coli communis Holland (J. Bact. 1920. 5. p. 217).
Numele comun: *colibacilul*

Escherich (1885) observă că în materiile fecale ale copiilor nou-născuţi apar, după prima masă consumată, bacterii şi, în primul rînd, o bacterie Gram negativă, nesporulată, capabilă să coaguleze laptele şi căreia autorul îi dă numele de *Bact. coli commune.* Curînd după naştere apare o a doua bacterie Gram negativă, pe care Escherich o studiază şi îi dă numele de *Bact. lactis aerogenes.* Cercetările întreprinse de diverşi cercetători, după aceste prime investigaţii, au arătat că aceste bacterii sînt universal răspîndite și se găsesc constant în tubul intestinal al tuturor vertebratelor. De aici ele se elimină, o dată cu materiile fecale, în mediul exterior și le putem găsi în apă, alimente (lapte) etc. După unii cercetători, există specii de colibacili total saprofite, în sensul că habitatul lor obișnuit ar fi mediul ambiant și nu tubul digestiv.

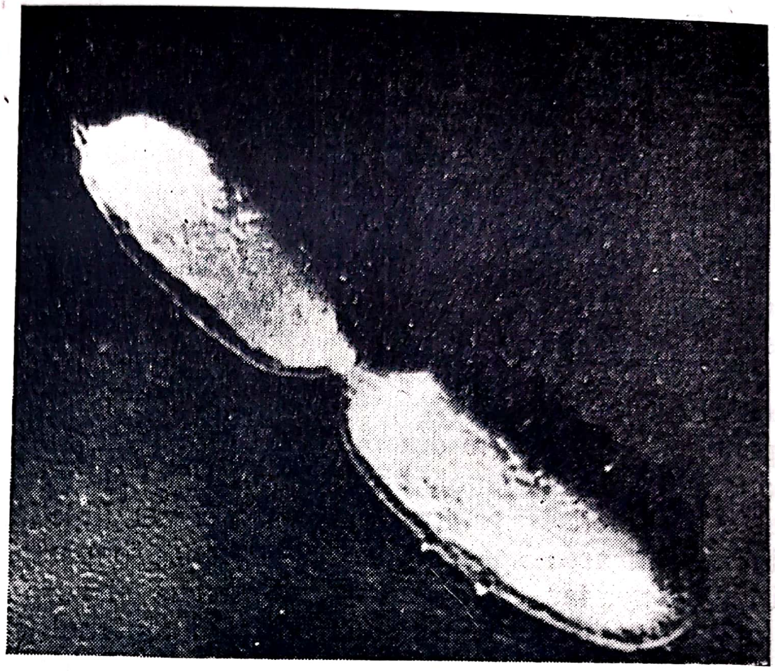


Fig. 19 — *Escherichia coli*, tulpina 2B; × 18 000 (după Scanga)

Element bacilar în fază avansată de diviziune simplă

Caractere morfologice. Este o bacterie polimorfă. În frotiurile din culturi se întîlnesc forme rotunde, cocobacilare sau bacilare. Diametrul longitudinal, în consecință, variază în limite largi, și anume de la 1 la 5 microni. Diametrul transversal este mai puțin variabil, fiind cuprins între 0,4 și 0,6 microni. Compoziția mediilor de cultură influențează dimensiunile germenilor.

Nu sporulează.

Nu formează capsulă. Sub influența bacteriofagului, germenul secretă, uneori, o substanță de aspect mucos, care poate îmbrăca forma unei capsule.

În general este mobil, prezentînd 4—8 cili dispuși peritrich. Forme imobile se întîlnesc frecvent. Ele se pot izola din culturile vechi ale tulpinilor mobile. Rasele imobile dau, după unii autori, colonii opace, iar cele mobile colonii transparente.

Se colorează cu coloranții obișnuiți.

Gram negativ.

Poate prezenta o colorație bipolară.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe mediile obișnuite.

În bulion produce o tulburare intensă, cu depozit și inel la suprafață. Formele R dau o cultură aglutinată, cu peliculă la suprafață. Pe agar, coloniile izolate de tip S sînt rotunde, cu marginile și suprafața netede, măsurînd 3—5 mm sau mai mult. Se dezvoltă în lapte, apă peptonată, gelatină, cartof, medii sintetice etc.

Temperatura optimă este de 37°C. Se dezvoltă la o temperatură cuprinsă între 10 și 49°C.

pH-ul optim = 6,7; se multiplică însă în medii mult acide, pH = 4,4 sau mult alcaline, pH = 8 sau mai mult.

Este aerob facultativ.

Proprietăţi biochimice. Germenul are importante proprietăţi zaharolitice. El fermentează, cu producţie de acid şi gaz, în special glucoza şi lactoza, dar este inactiv faţă de zaharoză. Acest mod de comportare îl diferenţiază de *Salmonella* (inactivă faţă de lactoză), de *Pasteurella* (inactivă faţă de lactoză, dar atacă zaharoza), şi de *Proteus* (atacă zaharoza, dar nu lactoza).

Colibacilul mai fermentează, cu producţie de acid şi gaze (CO_2 şi H_2), ramnoza, levuloza, galactoza, manoza, maltoza, manita, dulcita, sorbita, salicina şi esculina. Nu fermentează rafinoza, adonita, ertrita şi inulina.

Colibacilul nu este proteolitic, ceea ce îl deosebeşte de *Proteus vulgaris*. El este, într-adevăr, inactiv faţă de gelatină sau ser coagulat. Polipeptidele, constituite din molecule mai mici, sînt însă dezintegrate, cu producţie de indol, fenol, hidrogen sulfurat, amoniac etc. Producţia de indol este o caracteristică importantă a germenului, însă singură nu poate servi la identificarea speciei, deoarece, pe de o parte, mai există şi alte specii indologene, iar, pe de altă parte, există şi rase de colibacili neindologeni.

Alături de fermenţii zaharolitici şi peptonolitici, unii colibacili, în special cei izolaţi din procese inflamatorii, secretă fermenţi hemolizanţi. Prezenţa acestora se poate pune în evidenţă în culturi pe agar cu sînge sau în apă peptonată cu globule roşii spălate (pentru 5 ml de apă peptonată se adaugă 0,1 ml de globule roşii centrifugate). Activitatea hemolitică este egal de activă faţă de globulele roşii ale diverselor specii — om, maimuţă, oaie, cîine, iepure şi cobai (Magheru şi col.).

Structura antigenică. Colibacilul, fiind germen mobil, posedă două grupe de antigeni : H (flagelari) şi O (somatici). Se observă o mare variabilitate în structura antigenică şi, în general, un ser preparat cu o tulpină este activ numai faţă de tulpina homoloagă. S-au încercat clasificări şi constituirea unor grupe serologice (Kauffmann, 1947).

Rezistenţă. Se conservă timp îndelungat în culturi. In apa sterilă sau de robinet el se conservă, de exemplu, pînă la 3 ani (Efendi, Zade şi col., 1953). Tulpinile apatogene sînt sensibile şi se lizează în prezenţa alexinei (Bordet). Rowley (1955) observă, în acelaşi sens, că serul proaspăt de şoarece distruge rapid germenii avirulenţi, în timp ce germenii patogeni rezistă în proporţie de 100%.

Diversele antibiotice acţionează diferit in vitro. Cele mai active sînt polimixina şi aerosporina, urmate fiind de aureomicină şi cloromicetină. Cloromicetina este activă pentru unele tulpini, dar inactivă faţă de altele. Foarte inegal se comportă şi penicilina. Bacitracina este inactivă (Frank şi col., 1950).

Toxicitate. Colibacilul este un germen puţin virulent, adică dotat cu o slabă putere invazivă ; în schimb, celula sa conţine componenţi toxici, care se găsesc în :

1. filtrate de cultură
2. germeni morţi
3. extrase chimice.

Toxicitatea filtratelor. Filtratele, provenind din culturi în bulion, incubate un timp variabil la 37°C, conţin principii toxici. Se disting în aceste filtrate două toxine şi anume:

1. neurotoxina sau exotoxina solubilă;
2. viscerotoxina, enterotoxina sau endotoxina solubilă.

Neurotoxina este prezentă, într-o mai mare cantitate în culturile vechi de cîteva zile, 1—6 zile, iar viscerotoxina în culturile incubate un timp mai îndelungat, 15—20 de zile la 37°C, cînd se produce o alcalinizare a mediului, pînă la pH = 10. Cele două toxine nu se disting pe cale chimică şi nici prin inoculări la animale, dar se deosebesc prin rezistenţa lor la căldură. Neurotoxina se distruge la 75°C, dar rezistă 1 oră la 58°C. Viscerotoxina rezistă o oră la 90°C, dar se distruge la 100°C. Într-un mediu neutru, viscerotoxina nu devine inactivă nici chiar într-o oră la 110°C (Magheru şi col., 1944).

Cele două toxine nu sînt prezente la toţi colibacilii: unele tulpini pot secreta numai neurotoxina, altele numai viscerotoxina, iar altele sînt lipsite de orice toxicitate.

Viscerotoxina se extrage prin macerarea germenilor, în apă fiziologică sau distilată.

Valoarea toxică a unui filtrat se poate determina, în cele mai bune condiţii, pe cobai, prin injecţii intracerebrale (Magheru şi col.). Filtratele, provenind din culturi tinere şi care conţin neurotoxina, ca şi cele obţinute din culturi vechi, 15—20 de zile, şi care conţin într-o mare concentraţie viscerotoxina, dau rezultate asemănătoare: doza de 0,1 ml dintr-o diluţie $^{1}/_{5}$ sau chiar $^{1}/_{10}$—$^{1}/_{30}$, administrată intracerebral, omoară cobaiul de 400 g în 24 de ore. Diferenţele între cele două fracţii toxice sînt de ordin cantitativ: filtratul din culturi vechi este mai activ ca cel din culturi tinere; el omoară cobaiul în doze mai mici, 0,1 dintr-o diluţie $^{1}/_{30}$, în timp ce filtratul din culturi tinere este activ cel mult în doză de 0,1 dintr-o diluţie $^{1}/_{15}$.

Se afirmă că neurotoxina omoară animalele prin paralizii bulbare, iar viscerotoxina prin tulburări digestive.

Filtratele sînt toxice pentru cobai şi pe cale intraperitoneală, însă în doze mult mai mari. Doza mortală variază în limite largi; de la 6 la 30 ml. Neurotoxina este şi pe această cale ceva mai puţin activă ca viscerotoxina.

Filtratele obţinute din culturi de colibacili sînt toxice şi pentru iepuri. Injectate pe cale intravenoasă ele produc leucopenie, însoţită de tulburări digestive şi respiratorii şi urmate, cînd doza a fost suficient de mare, de moartea rapidă, 1—2 ore, prin şoc respirator. La autopsie se constată infiltraţie leucocitară în pereţii alveolari şi stază puternică în ficat (Stamatin şi col.).

Sastin (1953) a constatat că sub influenţa endotoxinei colibacilare se produce o reducere importantă a respiraţiei tisulare a ficatului. Inhibiţia respiraţiei a ţesutului hepatic este de origine nervoasă.

Toxicitatea corpilor bacterieni. Suspensiile de colibacili, omorîte prin căldură, sînt toxice pentru animalele de experienţă. Germenii conţinuţi de o cultură pe agar veche de 24 de ore, puşi în suspensie în 1 ml de apă fiziologică şi omorîţi printr-o încălzire de 1 oră la 80°C, omoară, pe cale intraperitoneală, cobaiul de 400 g. Pe cale intracerebrală cobaiul este mult mai sensibil: 0,1 ml dintr-o diluţie $^1/_{20}$ din suspensia unei culturi pe agar în 1 ml de apă fiziologică îl omoară în mod constant (Magheru şi col.). Doza mortală pentru şoarece este de 10 mg de bacili morţi, injectaţi pe cale intraperitoneală. Animalele injectate cu această doză mor în 10—20 de ore, prezentînd tulburări respiratorii şi o stare de prostaţie. Iepurele este sensibil şi 5 mg de bacili omorîţi prin căldură, administraţi pe cale intravenoasă, îl pot omorî în cîteva ore, cu tulburări respiratorii. Histologic, la aceste animale se constată o invazie masivă de elemente albe în pulmon.

Suspensiile obţinute din variantele S sînt mult mai toxice decît acelea care provin din formele R. Primele omoară şoarecele pe cale intraperitoneală, în doză de 10 mg, iar cele din urmă în doză de 50 mg greutate umedă (Magheru şi col.).

Toxicitatea extraselor chimice. Complexul acidosolubil. Extrase chimice toxice au fost obţinute, prin diverse metode, de numeroşi autori. Magheru şi colaboratorii (1937), aplicînd tehnica Boivin şi Mesrobeanu, extrag, din formele S de colibacili, complexul acidosolubil (glucido-lipido-polipeptidic), care este toxic pentru animalele de experienţă.

Şoarecii tineri de 14 g sînt, într-adevăr, omorîţi în 18—24 de ore, cu fenomene de enterită hemoragică, cînd această toxină este introdusă pe cale intraperitoneală, în doza de 0,1—0,2 mg substanţă uscată. Pe cale subcutană, doza mortală este de 2—3 ori mai mare.

Cobaiul de 300—450 g este omorît, în 24 de ore, cînd este inoculat pe cale intraperitoneală cu 3 mg de toxină. Pe cale intracerebrală doze foarte mici de toxină, 0,01 mg, omoară animalul.

La autopsia animalelor moarte se găsesc sufuziuni sanguine în stomac, congestii în ficat, rinichi, intestine, suprarenală şi uneori în pulmon.

Iepurele este foarte sensibil: 1 mg de toxină, administrat pe cale intravenoasă, produce moartea animalului. Simptomele şi leziunile sînt localizate pe tubul digestiv, enterită hemoragică. Pe cale intradermică, 0,2 mg de toxină produce o zonă necrotică locală.

Complexul nucleoproteinic. Stamatin, Georgescu şi colaboratorii (1951), reluînd problema componenţilor toxici ai colibacilului, au reuşit să izoleze un complex de natură nucleoproteinică. În vederea izolării acestui complex, autorii tratează bacteriile cu acid tricloracetic. După 24 de ore de contact, bacteriile se separă prin centrifugare, depozitul se ia cu apă alcalinizată la pH = 8,2 şi după cîteva ore de contact corpii microbieni se separă prin centrifugare. În lichid se găseşte toxina protidică care precipită, în mediul alcoolic, la pH = 4,5. Produsul se purifică prin solubilizări repetate în apă alcalină şi precipitări în mediul alcoolic, în zona acidă, pH = 4,5.

Prin proprietăţile sale chimice, produsul este o nucleoproteină. El este solubil în apă alcalină, în care dă o soluţie opalescentă. Cantitativ, se găseşte în celule într-o proporţie mai mare decît complexul glucido-lipidic. Astfel, 10 g de bacterii dau 0,6 g de complex glucido-lipidic şi 6 g de nucleoproteină (greutate umedă). În filtrate de cultură de cîteva zile, complexul glucido-lipidic se găseşte însă într-o proporţie mai ridicată decît cel nucleoproteinic. 100 ml de filtrat dintr-o cultură de 7 zile dau 1 g de substanţă glucido-lipidică greutate umedă şi de-abia 0,3 g de complex nucleoproteinic.

Comparativ, toxicitatea nucleoproteinei este mult mai accentuată ca a complexului glucido-lipidic.

Iepurele nu este omorît, pe cale intravenoasă, în mod sigur decît de 30 mg de complex glucido-lipidic (substanţă umedă). Acelaşi efect este produs de o greutate de cinci ori mai mică de substanţă nucleoproteinică (6 mg). Animalele injectate cu produsul nucleoproteinic, în doză minimă mortală, mor în 12—20 de ore. Doze mai mari le omoară într-un timp mult mai scurt, 1—2 ore. La autopsie se găsesc leziuni hemoragice pe pulmon, cord, mucoasa intestinală, stomacală, congestii în ficat, rinichi. Histologic se constată, pe lîngă congestii şi hemoragii în diverse organe, o infiltraţie cu polinucleare a pereţilor alveolari. La iepurii morţi după 12—200 de ore de la injecţie se găsesc, în plus, focare necrotice în ficat.

Rezultă din aceste date că pe cale chimică se pot izola din suspensii colibacilare două fracţii toxice:

a) una de natură glucido - lipido - polipeptidică situată la suprafaţa celulei şi prezentă numai la formele S;

b) a doua de natură nucleoproteinică, situată în zonele interne ale celulei bacteriene şi reprezentînd masa ei principală.

Acest complex este constituentul toxic principal şi el pare a fi prezent la toate formele de colibacili, S sau R.

Pare foarte probabil că complexul glucido-lipidic constituie un înveliş al celulei bacteriene, un fel de capsulă fără funcţiuni esenţiale în viaţa celulei şi din această cauză celula se poate dispensa, transformîndu-se astfel, din S în R. Prin poziţia şi prin structura sa, complexul împiedică difuziunea nucleoproteinei în mediu. Din această cauză, filtratele provenind din culturi tinere sînt sărace în nucleoproteidă în comparaţie cu fracţia glucido-lipidică. Această din urmă substanţă apare nu numai ca un component celular, ci ca un produs de secreţie. Se mai observă că suspensiile colibacilare tratate direct cu alcali nu eliberează decît parţial sau chiar de loc nucleoproteina. In schimb, ele dau un procent important de nucleoproteină, dacă, în prealabil, au fost tratate cu acid tricloracetic, înlăturînd, prin aceasta, bariera glucido-lipidică.

Valoarea antigenică a extraselor chimice. Complexul glucido-lipidic este un bun antigen. El precipită cu serurile preparate cu germeni totali şi, inoculat la animale, pe cale intravenoasă, provoacă apariţia anticorpilor precipitanţi pentru el însuşi, ca şi pentru haptena poliosidică, şi aglutinanţi pentru bacteriile totale. Dacă, din punct de vedere al acţiunii patogene, complexul glucido-lipidic nu diferă de la un colibacil la altul şi nici chiar de la un colibacil la o *Salmonella,* din punct de vedere serologic el diferă nu numai de la o grupă bacteriană, dar chiar de la o tulpină de colibacili la alta. Magheru şi colaboratorii (1936) izolează din 23 de tulpini de colibacili 13 antigeni glucido-lipidici, care se disting serologic. Fiecare antigen precipită în prezenţa serului preparat cu tulpina omoloagă și uneori cu alte seruri ale unor tulpini aparținînd aceleeași grupe, dar nu dă nici un precipitat, chiar la concentrații mari (1/1 000), cu seruri preparate cu tulpini din alte grupe.

Antigenul glucido-lipidic prezintă o importantă diversitate serologică; el are o specificitate nu numai de specie, dar și de grupă și permite gruparea colibacililor în mai multe tipuri. Se constată însă că germenii aceluiași tip serologic pot diferi între ei prin alte proprietăți, ca fermentarea substanțelor hidrocarbonate, activitate hemolitică etc. Complexul glucido-lipidic al tulpinilor din aceeași grupă serologică poate diferi din punct de vedere chimic. Diferențele se referă la funcțiunile neantigenice ale complexului, și anume la conținutul în acizi grași. Asemenea deosebiri de structură chimică, la antigeni serologici identici, au mai fost semnalate și la *Salmonella typhimurium* de Ciucă și colaboratorii (1936).

Complexul nucleoproteinic este dotat cu proprietăți antigenice și se comportă ca un antigen complet. Inoculat la iepuri el provoacă apariția anticorpilor aglutinanți. Acești anticorpi însă nu sînt activi asupra suspensiilor colibacilare astfel cum sînt cele obținute din culturi pe agar și întrebuințînd asemenea suspensii ei nu pot fi puși în evidență. Ei apar însă și sînt activi asupra suspensiilor constituite din bacili detoxificați, adică tratați cu acid tricloracetic, pentru a extrage complexul glucido-lipidic. Extragerea antigenului glucido-lipidic poate fi urmată de extracția complexului nucleoproteinic. Suspensiile bacteriene lipsite de complexul glucido-lipidic sau și de acesta și de cel nucleo-proteinic sînt aglutinate la un titru ridicat, astfel cum se vede în tabelul 11, de un ser preparat cu antigen nucleoproteidic.

Tabelul 11

Felul serului	Suspensie bacteriană normală	Suspensii bacteriene din care s-au extras glucido-lipida și nucleoproteina	Suspensii bacteriene din care s-a extras glucido-lipida
Ser preparat pe iepuri prin inoculări repetate (6) de complex nucleoproteinic	± la 1/25	+ la 1/800	+ la 1/800
Ser preparat prin inoculări repetate (6) de complex glucido-lipidic	± 1/25 ∓ 1/50	+ la 1/400	—
Ser preparat cu coli total, adică nedetoxificat	+ 1/200 și mai mult	+ la 1/50	—

Infecția experimentală. Colibacilii izolați din intestin sînt, de cele mai multe ori, apatogeni; proporția tulpinilor patogene față de cele lipsite de patogenitate este de regulă, $^{1}/_{10}$. În schimb, colibacilii izolați din procese patologice de la om sau animale sînt activi pentru animalele de laborator.

Infecţia, la animalele de laborator, este condiţionată, în afară de originea tulpinii, de doza folosită şi de calea de administrare. Colibacilii nu dezvoltă o infecţie mortală decît atunci cînd sînt inoculaţi în doze mari şi pe căi convenabile.

Şoarecele este destul de rezistent. Doza mortală este după unii autori, de 10 mg de bacili umezi administraţi pe cale intraperitoneală. O asemenea doză provoacă o septicemie mortală în cel mult 24 de ore. Pe cale subcutană, germenii inoculaţi în doză mare produc un edem local asemănător celui provocat de tulpinile edematogene de *Bacillus anthracis.* Infecţia este adeseori mortală.

Cultura în bulion a unor tulpini este destul de activă. Scurtu a examinat două tulpini izolate din organele a două pisici, constatînd că una din tulpini omoară şoarecele, pe cale intraperitoneală, în doză de 10^{-3} ml, iar a doua tulpină în doză de 10^{-2}. Şoarecii mureau în cel mult 24 de ore. Pe cale subcutană, ambele tulpini omorau şoarecii numai în doză de 10^{-1} ml.

Cobaiul este omorît cu o doză de 0,25—0,5 ml de cultură în bulion de 24 de ore, administrată pe cale intraperitoneală. Moartea survine în 24—48 de ore şi animalul prezintă, la autopsie o peritonită serofibrinoasă, precum şi leziuni congestive în toate organele. Germenii se izolează constant din sînge. Pe cale subcutană cultura poate produce un abces local, dar care nu este urmat de o infecţie generală şi nici de moartea animalului.

Iepurele este infectat cu doze mai mici decît şoarecele şi cobaiul. Pe cale intravenoasă, a 10-a şi chiar a 20-a parte dintr-o cultură pe agar de 24 de ore omoară iepurele în 16—30 de ore.

Găina este sensibilă în cazul inoculării culturii (1 ml de cultură în bulion) pe cale intravenoasă. Cultura este inofensivă pe cale subcutană sau intramusculară.

Porumbelul este sensibil şi tulpinile patogene îl omoară oricare ar fi calea de administrare a culturii.

Examinînd patogenitatea germenilor vii, în comparaţie cu a celor morţi, se constată că nu există diferenţe importante între dozele minime mortale ale celor două feluri de germeni. La şoarece nu se constată, de regulă, nici o diferenţă între doza minimă mortală de germenii vii sau omorîţi prin căldură, în cazul inoculării intraperitoneale. Aceste fapte demonstrează că activitatea patogenă a colibacilului se datoreşte exclusiv produşilor toxici pe care îi are incluşi în celula sa. Invazia organismului, în cazul injecţiei germenilor vii, pare a fi un proces care se petrece în ultima fază a maladiei şi care nu este determinant în evoluţia infecţiei. Colibacilul este un tip de germen toxigen, dar lipsit de virulenţă.

INFECŢIILE COLIBACILARE NATURALE

Infecţii umane

La om, infecţiile colibacilare sînt, de regulă, localizate şi numai rareori generalizate, septicemice. Formele septicemice pot fi consecinţa unor focare localizate. La copii se pot întîlni însă septicemii fără localizări. In asemenea cazuri, leziunile găsite la autopsie sînt de tip hemoragic. La adulţi, localizările cele mai frecvente sînt pe aparatul urinar şi în vezica biliară, ele evoluînd clinic, respectiv, sub formă de pielite, cistite şi colicistite. Colibacilii singuri sau asociaţi cu alţi germeni — stafilococi, streptococi — pot fi izolaţi din peritonitele traumatice. La copii, în special la sugari, colibacilii — anumite rase — pot produce tulburări gastrointestinale. Colibacilii avînd asemenea proprietăţi de patogenitate se pot găsi la purtători adulţi, la animale, dar după Monnet şi colaboratorii (1954), şi în apă.

Colibacili izolaţi din enteritele infantile maligne aparţin următoarelor tipuri serologice: O_{111} B_4; O_{55} B_5; O_{26} B_6 şi O_{86} B_7.

Diagnosticul formelor septicemice se face în general, prin hemoculturi. De asemenea, se practică, tot în scop de diagnostic, uroculturi. Izolarea colibacilului din cadavre nu poate constitui totdeauna o probă evidentă că germenul a intervenit într-un fel oarecare în producerea morţii, deoarece adeseori colibacilii invadează organismul în perioada agonică sau scurt timp după moarte. Colibacilii izolaţi de la copii prezentînd enterite maligne, se diagnostică serologic; tulpina izolată e cercetată întîi cu un ser polivalent — conţine anticorpii activi pentru toate cele 4 tipuri serologice amintite mai sus — şi apoi cu serurile monovalente pentru a preciza tipul căreia aparţine. Aglutinarea se face întîi rapid pe lamă şi apoi şi în tuburi (aglutinare lentă).

Infecţii animale

Animalele, şi mai ales tineretul diverselor specii, sînt sensibile faţă de acţiunea patogenă a colibacililor. Această sensibilitate este mai accentuată la organismele cu deficienţe fiziologice. Infecţia colibacilară se întîlneşte la viţei, păsări, capre şi se caracterizează prin tulburări digestive, mamite şi chiar septicemii.

Colibaciloza viţeilor

Patogenie. Infecţia colibacilară a viţeilor nu constituie o entitate morbidă. întrucît germenul invadează şi complică procese morbide preexistente; ea agravează şi grăbeşte evoluţia unor stări patologice în evoluţie. Natura stărilor patologice pe care se poate grefa este foarte variată: constituţie congenitală puţin robustă, alimentaţie şi igienă defectuoase, etc. Animalele importate şi în criză de aclimatizare dau adeseori viţei sensibili faţă de infecţiile colibacilare.

Colibacilul apare în intestinul viţeilor îndată după primul supt. El pătrunde în organism fie prin peretele intestinal a cărui integritate nu este normală, fie prin plaga ombilicală. Tabloul clinic, o dată această pătrundere realizată, este dominat de acţiunea patogenă a germenului şi se traduce fie prin tulburări intestinale sau ombilicale, însoţite de tulburări generale, fie numai prin tulburări generale.

Tulburările intestinale se traduc prin diaree şi slăbirea animalului şi sînt o consecinţă a multiplicării colibacilului (paratificii, pasteurelele produc simptome asemănătoare) în conținutul intestinal. Infecția intestinală este, de regulă, urmată de pătrunderea germenului în circulația generală, de septicemie și moartea animalului.

Pătrunderea germenului în plaga ombilicală duce la inflamația cordonului ombilical. Germenul poate rămîne localizat, dar el poate pătrunde și în organism, dînd o infecție generalizată de tip metastatic (abcese hepatice, pulmonare, articulare) sau septicemic. Formele septicemice, fără localizări, se observă, de regulă, la viţeii foarte tineri (cîteva zile și se datorește pătrunderii și multiplicării colibacililor în sînge. Boala are o evoluție fulgerătoare, cîteva ore, și se manifestă prin inapetență, zbîrlirea părului, febră.

La autopsia animalelor moarte cu forme septicemice se găsesc hemoragii pe seroase și mucoase. Splina este mărită și poate prezenta infarcte hemoragice. Ficatul degenerat poate conține focare hemoragice. Miocardul poate fi degenerat.

Prevenire și tratament. Măsurile de profilaxie a colibacilozei la viței sînt de natură igienică și dietetică. Viţeii născuți din mame sănătoase și corect alimentate vor naște viței viguroși care, crescuți în condiții igienice și rațional alimentați, nu se vor îmbolnăvi.

Haasjies dă următoarele indicații cu privire la alimentarea vițelului cu scopul de a evita infecțiile intestinale. Vițelul rămîne cu mama sa într-o boxă curată și caldă 12 ore după naștere; în acest timp el suge colostru. După 12 ore i se pune botniță pentru 24 de ore, în care timp nu i se dă nimic de mîncare. După acest interval el primește 500 g de lapte proaspăt, tăiat cu apă de var, menținut la 37°C.

Alimentația normală se face după 3 zile de la naștere, cînd începe să primească lapte de vacă. Cantitatea totală, pentru 24 de ore, reprezintă 6% din greutatea sa. In lapte, la fiecare prînz, se adaugă 500 g de apă de var.

Vițelul rămîne tot timpul cu botniță.

Ca o linie generală de conduită, pentru a evita infecțiile colibacilare orice animal adult sau tînăr care prezintă cea mai mică alterare a stării sale fiziologice, în special în ceea ce privește funcționarea aparatului digestiv și urinar, va fi izolat și ferit de contactul cu vițeii nou-născuți sau foarte tineri.

Tot ca măsură profilactică se recomandă dezinfecția plăgii ombilicale îndată după fătare. Dezinfecția se face, de regulă, cu tinctură de iod.

In crescătoriile în care, cu toate măsurile luate, boala își face periodic apariția, se va recurge la metode profilactice specifice. Vaccinarea vacilor către sfîrșitul perioadei de gestație a dat, uneori, rezultate satisfăcătoare, vițelul născîndu-se cu o stare de rezistență pe care și-o menține prin anticorpii ingerați o dată cu colostrul. Rezultate și mai bune pare că se obțin însă prin vaccinarea vițeilor. Operația începe în prima zi după naștere și continuă în zilele următoare.

Vaccinul folosit este constituit din suspensii în apă fiziologică, de culturi, de 24 de ore, pe agar. Germenii sînt diluați în proporție de 1 g de bacterii umede la 100 ml. Omorîrea lor se face prin formol.

Dozajul: vacile adulte sînt inoculate pe cale subcutană de trei ori, la 3 zile interval, respectiv cu 1, cu 2 și 2 ml de vaccin.

Viţeii sînt inoculaţi tot de trei ori şi la acelaşi interval de timp. Dozele injectate sînt 0,25, 0,5 și 0,75 ml.

Reacțiile vaccinale sînt imperceptibile.

Vaccinul colibacilar se poate asocia cu un vaccin paratific (*Salm. enteritidis* și *Salm. typhi-murium*), care se prepară în același fel și se injectează, paralel și în aceleași doze, ca și vaccinul anticolibacilar.

Tratamentul infecțiilor colibacilare ale viţeilor dă rezultate puțin satisfăcătoare. Se recomandă tonice generale, antidiareice. Folosirea serului imun nu dă rezultate apreciabile. Se poate întrebuința bacteriofagul. Sulfamidele și penicilina sînt inactive sau puțin active. Streptomicina, cloromicetina și aureomicina dau rezultate mai bune, dată fiind activitatea anticolibacilară a acestor antibiotice. Socotind după sensibilitatea colibacililor față de diverse antibiotice in vitro, cele mai bune rezultate trebuie să se obțină cu polimixină și aerosporină (Frank și col., 1950) Dobudiko (1952) obține rezultate bune cu praf de cheag. El administrează vițelului bolnav o linguriță de cheag în 500 ml de amestec de lapte și apă fiartă în părți egale.

Colibaciloza păsărilor domestice

Patogenie. Tineretul și, într-o mai mică măsură, păsările adulte sînt receptive față de infecția colibacilară. Aceasta, chiar la pui, nu îmbracă, de regulă, un caracter enzootic, ci apare la animalele cu deficiențe fiziologice evidente. Se citează, astfel, apariția maladiei la puii a căror incubație nu s-a făcut în bune condiții de temperatură și umiditate sau care, după ecloziune, nu au fost rațional alimentați și igienic adăpostiți. Cînd tot efectivul unei crescătorii se găsește sub imperiul acelorași factori debilitanți, infecția colibacilară se poate extinde și căpăta caracterul unei enzootii. În dezvoltarea procesului intervine desigur și capacitatea patogenică a germenului, colibacilul putîndu-și, probabil, amplifica, prin treceri pe animale, funcțiunile sale de patogenitate. Debilitatea păsărilor și activitatea patogenă a germenului constituie doi factori esențiali în apariția colibacilozei la păsări.

Simptome. Infecția, la tineret (pui de găină, rățuște, boboci de gîscă etc.), ca și la adulții diverselor specii poate evolua acut sau cronic. Formele acute se manifestă prin febră, diaree, cianoza crestei și bărbiilor. Moartea survine în scurt timp — de la cîteva ore pînă la cîteva zile — și este datorită fenomenelor asfixice. La autopsie se constată leziuni congestive și hemoragice în toate organele și mai ales pe seroase. Uneori pneumonie.

Formele cronice durează de la cîteva zile la cîteva săptămîni. Animalul prezintă, în aceste forme tulburări digestive, de regulă, diaree, alternînd cu constipație. La autopsie se pot constata leziuni necrotice în ficat, ulcere necrotice pe mucoasa intestinală, focare de bronhopneumonie.

Profilaxia trebuie să se facă ținînd seamă că colibaciloza este o infecție condiționată și că evitînd cauzele care măresc receptivitatea organismelor eliminăm însăşi maladia. Măsurile de izolare au eficacitate, de aceea trebuie aplicate cu stricteţe. Aceste măsuri evită ingestiunea în masă a colibacililor patogeni de către puii sănătoşi. Dezinfecţia şi curăţenia localului urmăreşte acelaşi scop şi trebuie să se aplice cu stricteţe.

Vaccinarea, ca metodă specifică de prevenţie a infecţiilor colibacilare la păsări, nu se aplică atît din cauza tipului epizootic al bolii, cît şi din cauza incapacităţii colibacilului de a conferi o stare satisfăcătoare de imunitate.

Tratamentul păsărilor bolnave este simptomatic şi, în general, lipsit de rezultate pozitive. Se administrează antidiareice, tonice generale etc.

Serurile imune şi antibioticele se pare că sînt ineficace.

Mamite colibacilare

Laptele din glanda mamară, adunat în spaţiile care îl conservă pînă la evacuarea sa prin muls sau supt, este lipsit de elementele normale de apărare a organismului şi, în consecinţă, cultivă, fără nici o piedică, germenii care găsesc în el un mediu favorabil. In aceste condiţii, mamitele colibacilare nu pot fi excluse, dată fiind ubicuitatea colibacilului. Asemenea infecţii, cu caracter sporadic, s-au descris la vacă, capră etc.

Tratamentul mamitelor colibacilare constă din mulgeri cît mai frecvente şi injecţii cu soluţii antiseptice slabe sau chiar spălături cu apă fiziologică sterilizată. Operaţiile de spălare trebuie făcute în condiţii de perfectă asepsie.

BIBLIOGRAFIE

BELENKI — Infuzorizarea viţeilor, *Veterinaria,* 1953, nr. 12, p. 25.

CIUCĂ M. şi col. — Complexul enzimatic al B. coli. „Rrx" şi al variantelor sale obţinute sub acţiunea bacteriofagului şi a streptomicinei, *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1953, 4, p. 159.

DOBUDIKO P. G. — Tratamentul colibacilozei viţeilor cu cheag, *Veterinaria,* 1952, nr. 2, p. 25.

FRANK P. şi col. — Sensibilitatea in vitro a bacililor coliformi faţă de şapte antibiotice, *J. Lab. a. clinical Med.* 1950, 35, p. 188.

KAUFFMANN T. — Serologia grupului Coli, *J. Immunology,* 1947, 1, p. 71.

MAGHERU G., MAGHERU A., BOIVIN A. şi MESROBEANU L. — Cercetări asupra antigenului complet (antigenul 0) al colibacililor, *Arch. Roum. de Path. Expér.* 1937, 10, p. 29.

MAGHERU G., MAGHERU A. şi CREANGĂ E. — Contribuţii la studiul preparării serului anticolibacilar, *Arch. Roum. de Path. Expér.* 1944, 13, p. 319.

MONNET P. şi col. — Esch, coli de tipurile 0111 şi 055 în apele de alimentaţie, *Ann. Inst. Past.,* 1954, 87, p. 347.

ROWLEY D. — Stimularea imunităţii naturale faţă de infecţia cu Esch. coli, *Lancet,* 1955, nr. 6857, p. 232.

SASTIN P. N. — Mecanismul de acţiune al endotoxinei bacilului coli asupra unor funcţii ale organismului, *Voprosi pitania,* 1953, nr. 5, p. 37.

STAMATIN N., GEORGESCU V., PAPADOPOL M., MIHAILOVICI-TAGA M. — Cercetări privind toxicitatea colibacililor şi a diverselor fracţiuni extrase pe cale chimică, *Anuarul Institutului de Patologie şi Igienă animală*, 1951—52, 3, p. 38.

Genul *Aerobacter* Beijerinck, 1900

Aerobacter aerogenes (Kruse) Beijerinck, 1900

Sinonim: *Bact. lactis aerogenes*

Morfologie. Germen polimorf, Gram negativ. Măsoară 1—2 microni lungime şi 0,5—0,8 microni lăţime.

Nesporulat. De regulă neciliat.

Este frecvent capsulat.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe mediile obişnuite. Tulbură bulionul. Pe agar formează colonii mucoide.

Aerob facultativ.

Temperatura optimă 30°C.

Habitat şi rezistenţă. Se găseşte în natură şi se poate izola din materiile fecale.

Se distruge în 30 de minute la 60°C.

Aerobacter cloacae (Jorden) Bergey et al., 1923

Morfologie. Germen polimorf, măsurînd 1—2 microni lungime.

Gram negativ.

Nesporulat.

Ciliat.

Necapsulat.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe mediile obişnuite. Tulbură bulionul. Pe agar colonii lucioase, avînd culoarea albă a porţelanului. Poate folosi acidul uric ca singura sursă de azot.

Habitat şi rezistenţă. Este răspîndit în natură. Se izolează din materiile fecale de la om şi animale. Sensibil faţă de polimixină, aerosporină, aureomicină şi cloromicetină, dar foarte rezistent faţă de penicilină, mult mai rezistent ca *Escherichia coli* sau *Klebsiella pneumoniae* (Frank şi col., 1950).

Genul *Klebsiella* Trevisan, 1885

Klebsiella pneumoniae (Schröter) Trevisan, 1882

Sinonim: *pneumobacilul lui Friedländer*

Morfologie. Germen polimorf, măsurînd 0,3—0,5 microni lăţime şi pînă la 5 microni lungime.

Gram negativ.

Nesporulat.

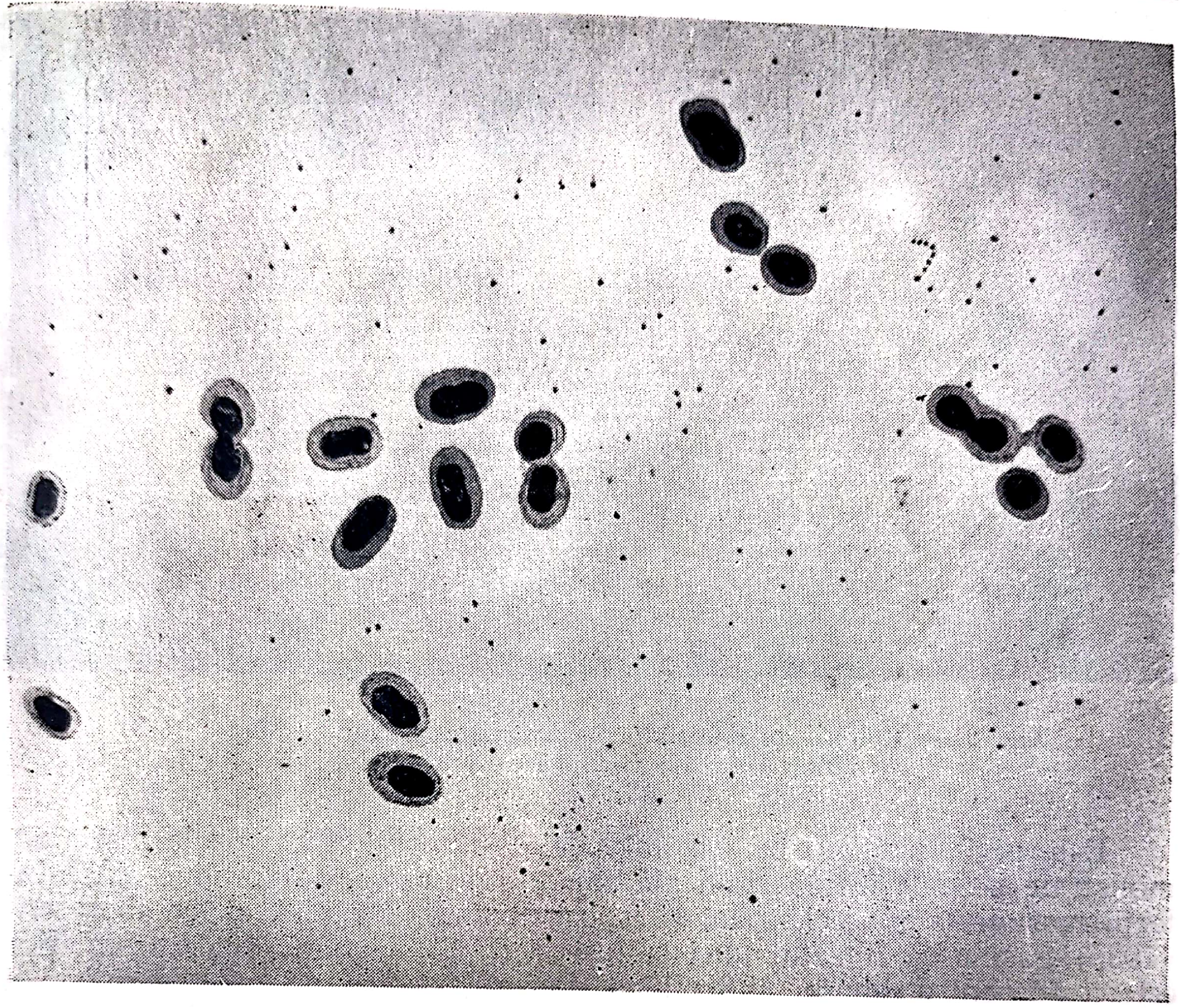


Fig. 20 — Klebsiella pneumoniae capsulată (din Jordan-Burrows, 1950)
Frotiu din cultură pe agar cu sînge

Aciliat.

Capsulat.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe mediile obişnuite. Tulbură bulionul. Pe agar colonii mucoase, difluente.

Aerob facultativ.

Temperatura optimă 37°C.

Nu lichefiază gelatina. Reduce nitraţii în nitriţi. Coagulează laptele. De regulă nu produce indol. Fermentează glucoza, lactoza, zaharoza, fructoza, galactoza, maltoza, manita şi inosita.

Structură antigenică. În cadrul speciei s-au distins mai multe tipuri A, B, C, D, pe baza felului substanţei hidrocarbonate prezente în capsulă (Heidelberger şi col., 1925, Goebel şi Avery, 1928).

Patogenitatea variază de la un tip la altul, tipul B fiind cel mai patogen. *Kl. pneumoniae* produce infecţii umane (Benciu, 1937) şi animale. La om, este întîlnit în pneumonii şi alte multiple infecţii. Este izolat din bronchopneumonii de la cabaline (mînji) şi alte specii animale. Barnes (1954) l-a identificat ca agent al mastitei la vaci.

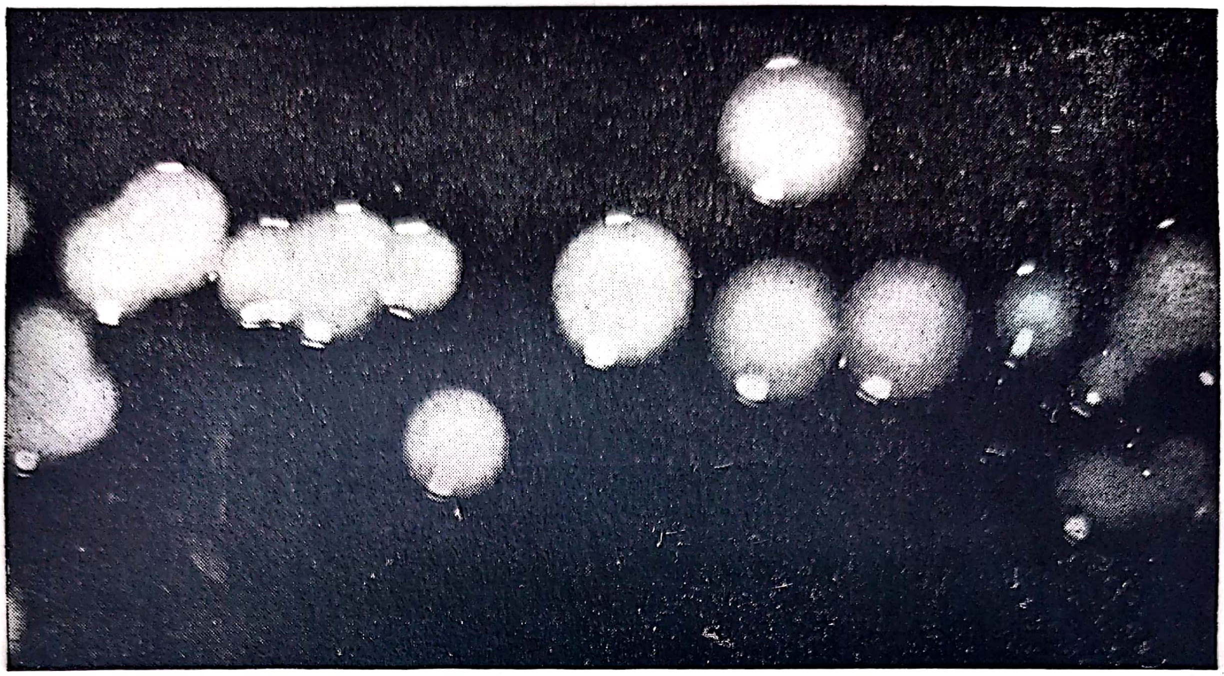


Fig. 21 — Colonii de *Klebsiella pneumoniae* pe agar cu sînge; × 3 (din Jordan-Burrows, 1950)

Este puțin patogen pentru animalele de experiență. Dozele mari, administrate pe cale intraperitoneală sau intravenoasă, pot produce însă infecții mortale la șoareci, cobai și iepuri. Levy Bruhl și colaboratorii (1935) găsesc că filtratul unei culturi de 7 zile la 35°C (mediu sintetic) este toxic pentru iepure (1,8 ml pe kilocorp), cobai (3 ml administrați subcutan), șoarece (0,5 ml subcutan). În dozele arătate toxina produce moartea animalelor respective în 6—12 ore.

Porumbelul este rezistent.

Tratament. Germenul este sensibil față de unele antibiotice, în special față de polimixină, aerosporină, aureomicină și cloromicetină; penicilina este și ea activă în doze mari (Frank și col., 1950).

BIBLIOGRAFIE

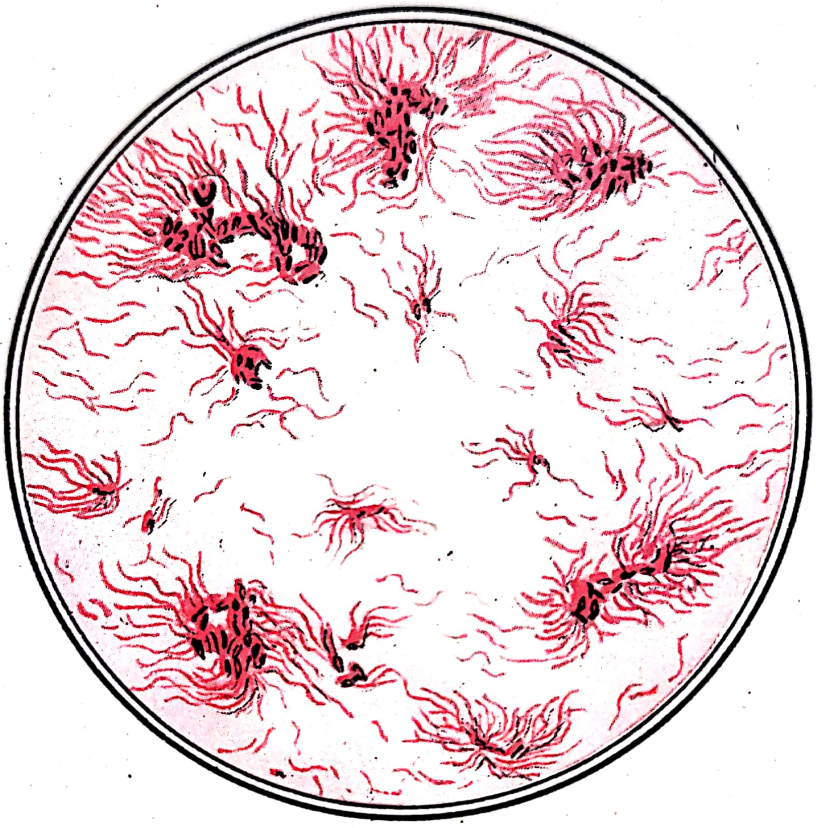
BARNES E. L. — Patru cazuri de mastită bovină produsă de Kl. pneumoniae, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1954, 125, p. 50.

BONCIU C. — Considerațiuni asupra a 2 cazuri de septicemie datorită bacilului Friedländer, *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1937, 10, p. 307.

GOEBEL W. F. și AVERY O. I. — Substanța specifică solubilă a bacilului Friedländer III. Izolarea și proprietățile carbohidratului specific din tipul A și C a bacilului Friedländer. *J. Exp. Med.* 1927, 46, p. 601, 1929, 50, p. 521.

HEIDELBERGER M., GOEBEL W. F. și AVERY O. T. — Substanța specifică solubilă dintr-o tulpină de Bacillus Friedländer, *J. Exp. Med.*, 1925, 42, p. 101.

LEVY BRUHL și Y. CADO — Toxina solubilă a pneumobacilului activă la iepure, cobai și șoarece, *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118., p. 954.



Proteus vulgaris
Colorație: Casares-Gill (desen: *Cerni*)

Genul *Proteus* Hauser, 1885

Proteus vulgaris Hauser, 1885

Sinonime: *Bacillus proteus* Trevisan, 1889, *Bacterium vulgare* Lehmann *și* Neumann, 1896.

Germenul a fost descoperit și descris de Hauser, în 1885, ca una din principalele bacterii de putrefacție.

Morfologie. Bacterie polimorfă, cocobacilară, măsurînd 1—2,5 microni lungime și 0,4—0,6 microni lățime.

Nu sporulează.

Nu se încapsulează.

Mobilă: cili peritrichi. Se pot obține în laborator variante imobile, prin cultivare în medii fenolate. De asemenea se pot izola variante imobile și din diverse medii naturale.

Gram negativ. Se colorează cu toate culorile bazice de anilină. Poate prezenta o colorație bipolară.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe mediile obișnuite. Tulbură bulionul. Pe agar, variantele imobile produc colonii rotunde; variantele mobile prezintă fenomenul de roire, adică însămînțate într-un punct al suprafeței de agar se întind pe toată suprafața. Acest fapt împiedică dezvoltarea și izolarea altor bacterii de pe aceeași suprafață de agar și de aceea materialele patologice, care conțin o floră mixtă, printre care se găsește și *Proteus vulgaris,* vor fi însămînțate pe medii cu substanțe (acid boric, sulfamide sau ser antiproteus ciliar), care inhibă fenomenul de roire.

Pe cartof dă o cultură abundentă, pigmentată în galben-cenușiu.

Temperatura optimă de dezvoltare 30—37°C.

Aerob facultativ.

Proprietăți biochimice. Lichefiază, constant și energic, gelatina. Reduce nitrații în nitriți. Produce indol și hidrogen sulfurat. Fermentează, cu producție de acid și gaze, glucoza, fructoza, galactoza și zaharoza. Nu atacă manita și lactoza. Pe baza fermentării maltozei, manitei, zaharozei, a producției de indol și a lichefierii gelatinei s-au diferențiat, în cadrul genului *Proteus,* patru specii, așa cum se vede în tabelul 12.

Tabelul 12

Caracterele distinctive ale speciilor din genul Proteus

	Capacitatea fermentativă asupra:			Producția de indol	Topirea gelatinei
	maltozei	manitei	zaharozei		
Proteus vulgaris	+	—	+	+	+ (rapid)
Proteus mirabilis	—	—	+	—	+ (încet)
Proteus morgani	—	—	—	+	—
Proteus rettgeri	—	+	+	+	—

Structură antigenică. Variantele mobile posedă antigeni H şi O, iar cele imobile numai antigeni O. Diversele tulpini diferă antigenic între ele, dar ele au şi antigeni comuni. Unele tulpini de *Proteus* şi, în special, tulpina *Proteus OX 19*, izolată de Weil şi Felix din urina bolnavilor de tifos exantematic, are antigeni comuni cu *Rikettsia prowazekii* (antigenul somatic de natură glucido-lipido-polipetidică), de unde capacitatea serurilor, provenind de la bolnavi de tifos exantematic, de a aglutina asemenea tulpini de *Proteus* (formele O imobile). Reacţia de aglutinare cu *Proteus OX 19* se foloseşte curent în diagnosticul tifosului exantematic uman (reacţia Weil-Felix).

Habitat şi patogenitate. Germenul se găseşte şi se izolează din carne putrefiată, cadavre intrate în putrefacţie, materii fecale etc. Singur sau în asociaţie cu alţi germeni, germenul poate produce diverse stări morbide — colecţii purulente, peritonite — la animale şi om. Bagdasar şi colaboratorii (1944) l-au izolat din abcese cerebrale şi medulare umane. A fost descris ca agent al intoxicaţiilor alimentare (Terentieva, 1953).

Unele tulpini de *Proteus*, în special cele izolate din colecţii purulente, sînt patogene pentru animale de experienţă, putînd omorî şoarecele în doza 1/200 ml de cultură în bulion de 24 de ore. Sensibil faţă de următoarele antibiotice — în ordinea sensibilităţii descrescînde — cloromicetină, penicilină, streptomicină şi aureomicină; există tulpini rezistente chiar faţă de antibioticele active şi în special faţă de penicilină şi streptomicină. Bacitracina, polimixina şi aerosporina sînt inactive sau puţin active (Frank şi col., 1950).

BIBLIOGRAFIE

BAGDASAR D., BADENSCHI A. şi ŢUPA S. — Cîteva consideraţii asupra prezenţei B. proteus (Hauser) în abcesele cerebrale şi în rănile coloanei vertebrale (plăgi de război), *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1943, 13, p. 226.

FRANK P. şi col. — Sensibilitatea in vitro a speciilor Bacillus proteus şi Ps. aeruginosa faţă de 7 antibiotice, *J. Lab. a. Cl. Med.*, 1950, 35, p. 205.

TERENTIEVA C. L. — Tulpinile toxigene de *Bact. proteus* în carne şi diagnosticul lor bacteriologic şi serologic, *Ghighiena i sanitaria*, 1953, 9, p. 52.

Genul *Salmonella* Lignières, 1900

Salmonella este numele unui gen mare, cuprinzînd numeroase specii înrudite serologic; germenii sînt Gram negativi, nu formează spori, au forma de bastonaş; lungimea 1—3 microni, iar lăţimea 0,4—0,6 microni; se pot prezenta sub formă filamentoasă. Bacteriile, afară de mici excepţii, sînt mobile; cilii sînt dispuşi peritrich. Salmonelele fermentează glucoza, de cele mai multe ori, cu producţie de gaz (excepţie fac *Salm. typhosa* şi *Salm. gallinarum*), nu atacă lactoza şi zaharoza, nu coagulează laptele, nu lichefiază gelatina, nu produc indol, nu hidrolizează ureea. Toate speciile cunoscute sînt patogene pentru om sau animale, sau şi pentru om şi pentru animale, Salmonelele mai sînt numite încă și paratifici; acest termen, în urma introducerii, în genul *Salmonella,* a speciei *Salm. typhosa,* agentul febrei tifoide sau tifosului uman, a devenit impropriu.

Primul reprezentant al genului, astfel cum el este astăzi constituit, a fost izolat de Eberth (1880) din febra tifoidă umană (tifosul abdominal). Un al doilea reprezentant al genului a fost găsit de Salmon (1885) în organele porcilor morți de pestă porcină, și greșit considerat ca agent al infecției. Pentru acest motiv, autorul a numit germenul izolat, bacilul holerei sau pestei porcilor. În 1896, Kruse dă bacteriei descrise de Salmon numele de *„suipestifer“,* care este și astăzi epitetul cel mai cunoscut al speciei. Gärtner, în 1888, izolează, de la oamenii intoxicați cu carne, o a treia specie din această grupă; cu această ocazie, autorul stabilește natura infecțioasă a enteritelor consecutive consumului unor alimente improprii, cum și originea acestor infecții; într-adevăr, autorul izolează din carnea unei vaci tăiate de necesitate un germen identic cu cel izolat de la omul bolnav. Kaensche, în 1893, la Breslau și de Nobele, în 1898, la Aertryke-Flandra, izolează, de la bolnavii intoxicați cu carne, o bacterie asemănătoare, dar nu identică cu aceea descrisă de Gärtner. Löffler, în 1890, izolează de la șoarecii morți în urma unei infecții cu caracter epizootic o bacterie care, așa cum s-a dovedit mai tîrziu, este identică cu aceea izolată de la om, la Breslau (tipul *Breslau* sau *breslaviensis*) sau la Aertryke și pe care a numit-o *Bacillus typhi-murium.* S-au izolat apoi germeni asemănători din paratifozele umane și animale, stabilindu-se, în cele din urmă, că unii germeni din această grupă sînt patogeni numai pentru om — paratificii A și B — alții sînt patogeni numai pentru animale — agentul tifozei aviare, al avortului la oaie etc. — și, în fine, o a treia categorie, în primul rînd tipul *Gärtner* și tipul *Breslau* (*Aertrycke-typhi-murium*), produce infecții comune omului și animalelor, care se transmit, cu alimentele, de la animale la om.

PRINCIPALELE SPECII ALE GENULUI

Salm. paratyphi A a fost izolată, în 1902, de Kayser (*Zbl. f. Bakt.,* 1902, 31, p. 426) din sîngele unui om bolnav. Tulpina se deosebește de agentul febrei tifoide.

Produce paratifosul la om.

Salm. paratyphi B. Prima tulpină a fost izolată, în 1896, de Achard și Besnaude, în Franța. Paratificii A și B sînt agenții principali ai paratifozelor umane.

Salm. typhi-murium. Prima tulpină a fost izolată de Löffler. (*Zbl. f. Bakt.,* 1892, 11, p. 192), în 1892 de la șoarecii morți în cursul unei epizootii spontane; germenul este identic cu *Bacillus psitacosis,* cu bacilul izolat la Breslau și cu cel izolat la Aertrycke.

Salm. abortus equi a fost, se pare, izolat, pentru prima oară, în 1893, de Smith și Killborne; produce avorturi cu caracter contagios, la iapă, așa cum au arătat în special Good și Corbet (*J. inf. Dis.* 1913, 13, p. 53); nepatogen pentru om sau alte animale domestice; omoară șoarecele per os.

Tabelul 13

Clasificarea germenilor din genul Salmonella după structura antigenică şi proprietăţi biochimice (după Kauffmann)

Grupa	Tipul	Structura antigenică			Proprietăţi biochimice distinctive														
		Antigen O	Antigen H		Gaze	Arabinoză	Dulcită	Inosită	Ramnoză	Trehaloză	Xiloză	d—tartrat	l—tartrat	i—tartrat	Citrat	Mucat	Glicerina Stern	H_2S	Lichefiază gelatina
			Faza 1	Faza 2															
A	Salm. PARATYPHI A	(I), II, XII	a	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	V	—
B	Salm. PARATYPHI B	(I), IV, (V), XII	b	1, 2	+	+	+	V	V	+	+	V	V	V	V	+	V	+	—
	Salm. ABONY	(I), IV, V, XII	b	e, n, x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. TYPHI-MURIUM	(I), IV, (V), XII	i	1, 2, 3	+	+	+	V	V	V	V	V	+	V	V	+	V	+	—
	Salm. STANLEY	IV, V, XII	d	1, 2	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+	V	+	—
	Salm. HEIDELBERG	IV, V, XII	r	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. CHESTER	IV, (V), XII	e, h	e, n, x	+	+	+	V	+	+	+	+	×	—	+	+	++	+	—
	Salm. SAN-DIEGO	IV, (V), XII	e, h	e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	V	++	+	—
	Salm. SALINATIS	IV, XII	d, e, h	d, e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+								
	Salm. SAINT-PAUL	I, IV, V, XII	e, h	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. ZAGREB	IV, V, XII	e, h	1, 2	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+1	+	+	++	+	—
	Salm. KAPOSVAR	IV, V, XII	e, (h)	1, 5	+	+	+	—	+	+	+	+	+	V	+	+	—	+	—
	Salm. KOELN	IV, V, XII	y	1, 2, 3															
	Salm. READING	IV, XII	e, h	1,5	+	+	+	V	V	+	+	+	×	—	+	+	V	+	—
	Salm. DERBY	(I), IV, XII	f, g	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. KAAPSTAD	IV, XII	e, h	1, 7															
	Salm. ESSEN	IV, XII	g, m	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. BUDAPEST	I, IV, XII	g, t	—	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+1	+	+	V	+	—
	Salm. CALIFORNIA	IV, XII	g, m, t	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. BRANDENBURG	IV, XII	l, v	e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	—	V	+	—
	Salm. BISPEBJERG	I, IV, XII	a	e, n, x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. ABORTUS EQUI	IV, XII	—	e, n, x	+	+	+	—	+	+	+	+	×	+1	+	—	—	—	—
	Salm. ABORTUS OVIS	IV, XII	c	1, 6	+	×	V	—	×	—	V	+	×	×	+	—	—	×	—

B	Salm. ARECHAVALETA	IV, (V), XII	a	1, 7															
	Salm. ALTENDORF	IV, XII	c	1,7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. ABORTUS BOVIS	(I), IV, XXVII, XII	b	e, n, x	+	+	+	—	V	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	+
	Salm. SCHWARTZENGRUND	I, IV, XXVII, XII	d	1, 7															
	Salm. BREDENEY	I, IV, (XXVII), (XII)	l, v	1, 7	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	+	++	+	—
	Salm. SCHLEISSHEIM	IV, XXVII, XII	b, z_{12}	—	+	+	—	—	+	+	V	+	×	—	+	+	++	+	+
C	Salm. PARATYPHI C	VI$_1$, VI$_2$, VII (Vi)	c	1,5	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	—	—	+	—
	Salm. CHOLERAE-SUIS 1	VI$_1$, VII	c	1, 5															
	Salm. CHOLERAE-SUIS 2	VI$_2$, VII	c	1,5															
	Salm. CHOLERAE-SUIS VAR. KUNZENDORF				+	—	×	—	+	—	+	V	×	×	+	×	—	+	—
	Salm. TYPHI-SUIS	VI$_1$, VI$_2$, VII	c	1,5	±	∓	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	Salm. THOMPSON		k	1,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. CARDIFF		k	1,10	+	+	+	+	+	+	+				+		++	+	—
	Salm. VIRCHOW		r	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. INFANTIS		r	1,5															
	Salm. ORANIENBURG		m, t	—	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	+	V	+	—
	Salm. POTSDAM		l, v	e, n, z_{25}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. BAREILLY		y	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. HARTFORD		y	e, n, x	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. MIKAWASIMA		y	e, n, z_{15}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. MONTEVIDEO 1		g, m, s	—															
	Salm. OSLO		a	e, n, x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. MONTEVIDEO 2	VI$_1$, VII	g, m, s	—															
	Salm. AMERSFOORT	VI$_1$, VI$_2$, VII	d	e, n, x	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. BROENDERUP	VI$_1$, VI$_2$, VII	e, h	e, n, z_{15}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. GEORGIA	VI, VII	b	e, n, z_{15}															
	Salm. CONCORD	VI, VII	l, v	1, 2, 3															
	Salm. TENNESSEE	VI, VII	z_{29}	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+		+	—
	Salm. PUERIS	VI$_1$, VIII	e, h	1, 2															
	Salm. NEWPORT		e, h	1, 2, 3	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. KOTTBUS		e, h	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—

(urmare tabelul 13)

Grupa	Tipul	Structura antigenică			Proprietăţi biochimice distinctive														
		Antigen O	Antigen H																
			Faza 1	Faza 2	Gaze	Arabinoză	Dulcită	Inosită	Ramnoză	Trehaloză	Xiloză	d—tartrat	l—tartrat	i—tartrat	Citrat	Mucat	Glicerina Stern	H_2S	Lichefiază gelatina
C	Salm. BOVIS-MORBIFICANS	VI$_1$, VIII	r	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	++	+	—
	Salm. MUENCHEN		d	1, 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. OREGON		d	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	+	+	V	+	—
	Salm. MEXICANA		d	1, 2, 4	+		+	+	+		+	+						+	—
	Salm MANHATTAN		d	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. NARASHINO		a	e, n, x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. GLOSTRUP		z_{10}	e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. LITCHFIELD		l, v	1, 2, 3d	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+1	+	+	++	+	—
	Salm. DUESSELDORF		z_4, z_{24}	—	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	+1	++	+	—
	Salm. BONARIENSIS	VI, VIII	i	e, n, x	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	++	+	—
	TIP NENUMIT	VI, VIII	e, h	1, 2															
	Salm. VIRGINIA	VIII	d	—															
	Salm. AMHERSTIANA	(VIII)	l, (v)	1, 6	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	+		+	—
D	Salm. TYPHI	IX, XII (Vi)	d	—	—	V	×	—	—	+	V	+	—	—	V	×	—	V	—
	Salm. ENTERITIDIS	(I), IX, XII	g, m	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	V	++	+	—
	Salm. enteritidis VAR. DANYSZ				+	V	+	—	+	+	+	+	V	V	V	+	—	+	—
	Salm. enteritidis VAR. ESSEN				+	+	+1	—	+	+	+	+	×	—	+	+	++	+	—
	Salm. enteritidis VAR. CHACO				+	+	+1	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
	Salm. DUBLIN	I, IX, XII	g, p	—	+	V	+	—	V	+	V	+	+	—	+	+	V	+	—
	Salm. ROSTOCK	I, IX, XII	g, p. u	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—
	Salm. MOSCOW	IX, XII	g, q	—	+	+	+1	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Salm. BLEGDAM	IX, XII	g, m, t	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Salm. PENSACOLA	IX, XII	g, m, t	—															
	Salm. BERTA	IX, XII	f, g, t	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	++	V	—

D	Salm. EASTBOURNE	(I), IX, XII	e, h	1, 5	+	+	+	V	+	+	+	+	+1	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. SENDAI	(I), IX, XII	a	1,5	—	+	×	—	+	+	+1	—	—	—	—	—	—	—	—
	Salm. LOMA-LINDA	IX, XII	a	e, n, x															
	Salm. ONARIMON	I, IX, XII	b	1,2	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. DAR-ES-SALAAM	I, IX, XII	l, w	e, n	+	+	+	—	+	+	+	×	—	—	+	+	+ +	+	±
	Salm. GOETTINGEN	IX, XII	l, v	e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	+	—	+	—
	Salm. DURBAN	IX, XII	a	e, n, z_{15}															
	Salm. PANAMA	I, IX, XII	l, v	1, 5	+	+	V	—	+	+	+	V	×	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. ITALIANA	IX, XII	l, v	1, 11															
	Salm. CLAIBORNEI	I, IX, XII	k	1, 5	+	+	+	—	+1		+	+			+			+	—
	Salm. GALLINARUM	IX, XII	—	—	—	+	+	—	+	+	+1	+	+	×	×	×	—	V	—
	Salm. NAPOLI	IX, XII	l, z_{13}	e, n, x															
	Salm. JAVIANA	(I), IX, XII	l, z_{28}	1, 5	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+		+	—
	Salm. CANASTEL	IX, XII	z_{29}	1, 5															
	Salm. PULLORUM	IX, XII	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	×	—	—	—	—	+	—
E	Salm. LONDON	III, X, XXVI	l, v	1, 6	+	+	+	+	+	+	+	+	×	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. GIVE		l, v	1, 7	+	+	+	+	+	+	+	V	V	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. UGANDA		l, z_{13}	1, 5	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. ANATUM		e, h	1, 6	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. MUENSTER		e, h	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	×	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. NYBORG		e, h	1, 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. VEJLE		e, h	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. AMAGER		y	1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. ZANZIBAR		k	1, 5	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. SHANGANI		d	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. MELEAGRIDIS		e, h	l, w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+1	+	+	+ +	+	—
	Salm. LEXINGTON		z_{10}	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. WELTEVREDEN		r	z 6															
	Salm. NEWINGTON	III, XV	e, h	1, 6	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+	—
	Salm. SELANDIA		e, h	1, 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. NEW-BRUNSWICK		l, w	1, 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+1	—	+	+	+ +	+	—
	Salm. CAMBRIDGE		l, w	e, h															

(urmare tabelul 13)

Grupa	Tipul	Structura antigenică			Proprietăți biochimice distinctive														
		Antigen O	Antigen H		Gaze	Arabinoză	Dulcită	Inosită	Ramnoză	Trehaloză	Xiloză	d—tartrat	l—tartrat	i—tartrat	Citrat	Mucat	Glicerina Stern	H_2S	Lichefiază gelatina
			Faza 1	Faza 2															
E	Salm. ILLINOIS		z_{10}	1, 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+		+	
	Salm. TACSONY	I, III, XIX	i	z_6	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+		+	—
	Salm. SENFTENBERG	I, III, XIX	g, s, t	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	+	+	+	++	+	—
	Salm. senftenberg VAR. NEWCASTLE				+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—
	Salm. NILOESE	I, III, XIX	d	z_6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. SIMSBURY	I, III, XIX	z_{27}	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+		+	—
ALTE GRUPE	Salm. PRETORIA	XI	k	1, 2, 3															
	Salm. ABERDEEN	XI	i	1, 2, 3	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. RUBISLAW	XI	r	e, n, x	+	+	+	V	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. SOLT	XI	y	1, 5	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+		+	—
	Salm. GRUMPENSIS	XIII, XXII	d	1, 7															
	Salm. POONA	XIII, XXII	z	1, 6	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	+	++	+	—
	Salm. BORBECK	XIII, XXII	l, v	1, 6															
	Salm. WORTHINGTON	I, XIII, XXIII	l, w	z	+	+	×	+	+	+	+	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. WICHITA	I, XIII, XXIII	d	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+1	+	+	++	+	—
	Salm. HABANA	I, XIII, XXIII	f, g	—	+		+	+	+		+	—							
	Salm. MISSISSIPPI	I, XIII, XXIII	b	1, 5															
	Salm. HEVES	(I), VI, XIV, XXIV	d	1, 5	+	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+		+	—
	Salm. CARRAU	VI, XIV, XXIV	y	1, 7	+	+	+	—	+	+	+	+	×	—	+	+	++	+	—
	Salm. MADELIA	(I), VI, XIV, XXV	y	1, 7	+			—	+	+	+	+	—	—	+	+		+	—
	Salm. ONDERSTEPOORT	(I), VI, XIV, XXV	e, (h)	1, 5	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. FLORIDA	(I), VI, XIV, XXV	d	1, 7	+			—	+	+	+	+	—	—	+	+		+	—
	Salm. SUNDSVALL	(I), VI, XIV, XXV	z	e, n, x, z_{16}															

ALTE GRUPE	Salm. HORSHAM	(I), VI, XIV, XXV	l, v	e, n, x															
	Salm. HVITTINGFOSS	XVI	b	e, n, x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	—
	Salm. GAMINARA	XVI	d	1, 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. SZENTES	XVI	k	1, 2, 3	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+		+	—
	Salm. KIRKEE	XVII	b	1, 2	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
	Salm. CERRO	XVIII	z_4 z_{23} z_{25}	—	+	+	+	—	+	+	×	+	+	—	+	+	++	+	—
	Salm. KENTUCKY	(VIII), XX	i	z_6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	—
	Salm. MINNESOTA	XXI, XXVI	b	e, n, x	+	+	+	V	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. TEL-AVIV	XXVIII	y	e, n, z_{15}	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	+	++	+	—
	Salm. POMONA	XXVIII	y	1, 7															
	Salm. BALLERUP	XXIX (Vi)	z_{14}	—	+	+	+	—	+	+	+	+1	—	—	+	+	—	+	—
	Salm. HORMOECHEI	XXIX (Vi)	z_{30}	—	+	+	+	—	+		+	+			+		++	+	—
	Salm. URBANA	XXX	b	e, n, x	+	+	+	—	+	+	+	+	+1	—	+	+	+	+	—
	Salm. ARIZONA	XXXIII	z_4, z_{23}, z_{26}	—	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—	+	+	++	+	±
	Salm. ADELAIDE	XXXV	f, g	—	+	+	+	—	+		+								
	Salm. INVERNESS	XXXVIII	k	1, 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+		+	
	BACT. COLI 1	XXXI (Vi)		1, 5															
	BACT. COLI 2	XXXII		1, 5															
	BACT. COLI 3	IV, V, XII	z_{20}																
	BACT. COLI 4	IV, (XXVII), XII	z_{21}																
	BACT. COLI 5	(I), VI, XIV, XXV	z_{22}																

Legenda

Gaze ;	+	= cantitate normală
	±	= puţine sau absente
Zaharuri şi acizi organici ;	+	= pozitiv în 3 zile
	$+_1$	= pozitiv obişnuit la 4—8 zile
	×	= rar şi tîrziu pozitiv, adeseori negativ
	V	= variabil de la o tulpină la alta
Glicerină Stern ;	++	= culoare lila în 1—3 zile
	+	= purpuriu sau lila în 4—8 zile
Gelatina ;	+	= lichefiere rapidă
	±	= lichefiere slabă

Salm. abortus ovis a fost izolată, în 1921, în Germania de Schermer şi Erlich. Produce avorturi cu caracter contagios la oi; nepatogen pentru om şi alte animale domestice, în afară de oaie.

Salm. cholerae suis sau *Salm. suipestifer* a fost izolată, în 1885, de Salmon de la porcii morţi de pestă porcină.

Salm. typhi suis a fost izolată, în 1909 de Glässer (*D.t.W.* 1909, 17, p. 513), în Germania; produce paratifosul purceilor. Sinonim: *Bacillus typhi suis*.

Salm. bovis morbificans a fost izolată, în 1894, la Amsterdam din carnea şi organele unei vaci tăiate de necesitate, după fătare (Basenau *Arh. f. Hyg.* 1849, 20, p. 257). Provoacă leziuni de pseudotuberculoză la bovine; poate infecta omul; se găseşte frecvent la iepuri.

Salm. typhi sau *Salm. typhosa* produce tifosul abdominal sau febra tifoidă a omului şi a fost izolată de Eberth, în 1880. Mult mai tîrziu, această specie a fost încadrată în genul *Solmonella* şi de aceea se socoteşte încă *Salm. suipestifer* ca primul reprezentant şi ca specia tip a genului.

Salm. enteritidis Gärtner, a fost izolată, în 1888, de Gärtner, în Germania, din carnea unei vaci tăiate de necesitate, cum şi din splina unui om mort în urma unei intoxicaţii alimentare produsă de carnea vacii respective.

Salm. enteritidis var. *danysz* a fost izolată de Bahr (*D.t.W.* 1928, p. 786 şi 1930, p. 145) dintr-o epizootie a şoarecilor de cîmp. Patogenă pentru şobolanii sălbatici.

Salm. gallinarum. Specie imobilă, izolată de Klein (*Zbl. f. Bakt.*, 1889, 5, p. 689); produce tifoza păsărilor.

Salm. pullorum. Specie imobilă izolată de Rettger (*N.Y.Med. Jour.* 1900, 71, p. 803); produce diareea albă a puilor de găină.

Salm. anatum sau *anatis* a fost izolată de la raţe de Rettger şi Scoville (*Abs. Bact.*, 1910, 3, p. 8) şi este o specie foarte răspîndită în lumea animală şi la om.

Diferenţele de ordin morfologic şi cultural, între diversele specii ale genului *Salmonella,* fiind, de cele mai multe ori, minime, diagnosticul diferenţial se bazează pe examenul caracterelor biochimice şi în special serologice. Structura antigenică, în urma minuţioaselor cercetări făcute, constituie caracterul distinctiv de cea mai mare valoare.

Caractere morfologice şi afinităţi tinctoriale. Salmonelele au formă de bastonaş; diametrul longitudinal este supus la importante variaţii: unii germeni sînt de-abia mai lungi decît laţi, aproape rotunzi, în timp ce alţii sînt de cîteva ori mai lungi decît laţi; filamente pot fi întîlnite, mai ales, în culturi vechi. Capetele bacililor sînt rotunde. Toate speciile descrise sînt mobile, afară de *Salm. gallinarum* şi *Salm. pullorum.* Cilii sînt dispuşi peritrich. Nu formează spori, nici capsulă.

Se colorează cu toate culorile bazice de anilină. Gram negative. Germenii pot prezenta, în frotiurile din organe, o coloraţie bipolară.

Rezistenţă. Salmonelele se conservă, un timp îndelungat, în mediul exterior organismelor pe care le parazitează. În apă sterilă, la temperatura camerei, ele sînt încă transplantabile după 8 luni; se conservă 2 luni în lapte, la rece sau la temperatura camerei; din materiile fecale uscate ele pot fi izolate după 2 luni. Suportă concurenţa altor specii bacteriene multiplicîndu-se, alături de colibacili, în bulion. Se pot izola din apele de spălare a străzilor, din closete; este foarte probabil că în mediul extern ele se pot chiar multiplica. Uscate pe fire de mătase, salmonelele au fost găsite încă vii şi transplantabile după 213 zile. Culturile întinse pe suprafaţa metalelor nu mor decît după 20—40 de zile, iar, pe suprafaţa bucăţilor de lemn, după 80—150 de zile. Se conservă, pînă la 3 ani, în medii de cultură, în tuburi închise la flacără. Se distrug însă repede în alimentele care au un grad de aciditate, ca zeama de varză, laptele acru, conserve preparate cu oţet. Se conservă, pînă la 75 de zile, în cărnurile ţinute într-o soluţie de 12—19% clorură de sodiu. Nu rezistă decît puţin timp în apă fiziologică, la 37°C. Acţiunea nocivă a clorurii de sodiu este condiţionată de temperatură şi numărul germenilor pe unitatea de volum.

Temperatura de 60°C omoară salmonelele într-o oră; la 70°C ele mor în 25 de minute, iar la 75°C în 5 minute. Pentru a le distruge, din cărnuri şi conserve, este necesar ca temperatura de 60—70°C să fie atinsă de totalitatea materialului de conservat. În cîrnaţi, fabricaţi din carne infectată, s-au găsit încă germeni vii după menţinerea lor în apă la temperatura de 95—96°C timp de 30—40 de minute.

Salmonelele au o sensibilitate inegală faţă de acţiunea antiseptică a diverselor substanţe, formol, fenol, hipermanganat de potasiu etc., constatîndu-se că *Salm. typhy-murium* este cea mai rezistentă, în timp ce *Salm. typhosa* şi *Salm. enteritidis* Gärtner sînt cele mai sensibile; *Salm. paratyphi B* ocupă o poziţie intermediară.

Sînt sensibile faţă de unele antibiotice ca streptomicina, aureomicina, cloramfenicol etc. Gradul de sensibilitate variază de la o tulpină la alta. Dandea şi colaboratorii (1957) au examinat 42 de tulpini cu privire la modul de comportare faţă de streptomicina in vitro, obţinînd următoarele rezultate:

3	tulpini,	adică	7,14%	au	fost	inhibate	de	1 gama pe 1 ml
4	„	„	9,54%	„	„	„	„	10 gama pe 1 ml
15	„	„	35,71%	„	„	„	„	100 gama pe 1 ml
16	„	„	38,09%	„	„	„	„	1 000 gama pe 1 ml
4	„	„	9,54%	„	„	„	„	10 000 gama pe 1 ml

Autorii constată că, în general, tulpinile izolate de la mamifere sînt mai rezistente ca cele provenind de la păsări.

Medii şi caractere de cultură. Salmonelele se cultivă pe mediile obişnuite de cultură: apă peptonată, bulion, gelatină, agar. Temperatura optimă 37°C; se multiplică însă şi la temperatura camerei. pH-ul optim = 7,2—7,6; se dezvoltă în limite largi pe pH, de la 3,9 la 8,4. Se multiplică în prezenţa oxigenului; reducerea concentraţiei acestui gaz nu împiedică multiplicarea germenilor.

În bulion şi, în general, în mediile lichide, germenii tulbură uniform şi intens mediul, un depozit putîndu-se constitui chiar în primele 24 de ore. Pe agar, însămînţările abundente dau un strat uniform, opac, de culoare uşor albăstruie. Coloniile izolate, pe acelaşi mediu, sînt rotunde, cu un diametru variind între 5 şi 7 mm, cu suprafaţa şi marginile netede. Coloniile unor specii formează, pe agar înclinat şi, în mai bune condiţii, în plăci Petri, după o incubaţie de 24 de ore la 37°C, şi o conservare de una sau mai multe zile la temperatura camerei, un val, un inel care înconjoară complet sau incomplet colonia şi care se deosebeşte de colonia primitivă prin coloraţie şi aspect. Formarea valului a fost folosită drept criteriu de diferenţiere între paratificul B şi alte salmonele, în special *Salm. typhi-murium*. Această din urmă specie nu produce, de regulă, colonii cu val, în timp ce coloniile de paratifici B prezintă, regulat, această particularitate culturală. *Salm. enteritidis* Gärtner, *Salm. suipestifer* constituie val, însă acesta nu este aşa de accentuat ca la paratificii B. Colibacilul produce şi el colonii cu val, însă el se deosebeşte prin alte caractere de salmonele. Prezenţa sau absenţa valului nu constituie un criteriu sigur de diferenţiere. Paratificul B poate pierde, printr-o lungă conservare în laborator, această proprietate, iar *Salmonella typhi-murium* o poate cîştiga prin cultivarea prelungită într-un strat subţire de bulion. Formarea valului este condiţionată de o serie de factori. Se produce pe agarul simplu, pe mediul lui Endo sau Gassner, dar lipseşte pe mediul lui Drigalski cu cristal violet. Agarul, cu o concentraţie de sare de 2—3%, îi favorizează apariţia ; la fel se comportă şi o atmosferă îmbogăţită în oxigen. Zaharurile fermentescibile împiedică constituirea valului, în timp ce cele nefermentate, ca lactoza sau zaharoza, îi înlesnesc formarea. Valul apare, în bune condiţii, pe un agar umed, pus în strat gros de 5—10 mm şi însămînţat în aşa fel încît coloniile să fie foarte rare ; cu cît coloniile sînt mai rare, cu atît valul este mai net.

Prin învechire, la suprafaţa coloniilor primare de pe agar, se pot constitui colonii fiice sau secundare, care ar avea, după unii observatori, un rol important în producerea variantelor bacteriene.

Coloniile unor specii de *Salmonella* se diferenţiază prin aspectul sau dimensiunile lor de majoritatea germenilor incluşi în acest gen. Coloniile de *Salm. abortus ovis*, de exemplu, sînt mult mai mici ca a celorlalte salmonele ; un aspect particular au şi coloniile tipului *pullorum*. Coloniile de *Salm. typhi-murium* pot avea, pe agar, aspectul unei rozete, datorită prezenţei unor nervuri care merg de la centru spre periferie, ca spiţele de la o roată ; tot coloniile de *Salm. typhi-murium* lasă, spre deosebire de alte specii, atunci cînd luăm de pe agar, o urmă, care este imaginea perfectă a coloniei, şi care se datoreşte pătrunderii germenilor în mediu.

Din organismul uman sau animal se izolează, de regulă, varianta S a salmonelelor ; acest tip, prin conservare pe mediile de cultură, adeseori se disociază, dînd naştere la forma R.

Tehnica şi mediile folosite pentru izolarea salmonelelor din materii fecale, urină, alimente şi alte materiale patologice cu flora bogată şi variată

Izolarea salmonelelor din materii fecale, urină şi alte materiale patologice infectate cu alte bacterii se poate face prin însămînţarea directă a acestor materiale pe un mediu solid selectiv sau, în cazul cînd se bănuieşte că salmonelele sînt puţin numeroase, materialul este însămînţat întîi într-un mediu de îmbogăţire, de unde, după o incubaţie de 6—24 de ore, la 37°C, se fac transplantări pe medii selective.

Mediile de îmbogăţire. Mediile lichide, cele mai curent folosite, pentru îmbogăţirea salmonelelor dintr-un produs de examinat, sînt cele cu tetrationat, verde brillant şi selenit de sodiu.

Mediul cu tetrationat, recomandat de Müller (1925), se prepară astfel: 90 ml de bulion steril se amestecă cu 4,5 g de pulbere sterilizată la uscat (180°C) de carbonat de calciu; se agită şi se adaugă 10 ml de soluţie sterilă de tiosulfat de sodiu (tiosulfat de sodiu pur cristalizat 50 g + apă distilată 100 ml), şi 2 ml dintr-o soluţie de iod şi iodură de potasiu (20 g iod + 25 g iodură de potasiu + apă distilată pînă la 100 ml).

Mediul Kauffmann-Müller. Kauffmann (1935) recomandă un mediu cu tetrationat combinat cu bilă şi verde brillant, şi preparat astfel: 500 ml de bulion cu tetrationat se amestecă cu 5 ml dintr-o soluţie 1% de verde brillant şi 25 ml de bilă de bou sterilă; mediul se agită mereu pentru a ţine în suspensie carbonatul de calciu şi, în acest timp, se distribuie în tuburi, cîte 10—15 ml în fiecare tub; sterilizarea se face timp de $^1/_2$ oră la autoclav, la 100°C. Mediul proaspăt are o culoare verzuie, care, prin învechire, devine verde-brună.

Mediul verde brillant. Kilian obţine rezultate bune cu un bulion de pH= 6,7— 6,9, conţinînd, ca substanţă inhibitoare pentru flora secundară, numai verde brillant (1 ml dintr-o soluţie de 0,1%, pentru 100 ml de bulion). Soluţiile de verde brillant nu se sterilizează; ele se conservă la întuneric timp de 2—3 luni. Mediul cu verde brillant se foloseşte astfel: materiile fecale se suspendă în apa fiziologică sau distilată: din amestec se însămînţează cîteva picături în mediu, din care, după o incubaţie de 18 ore, la 37°C, se fac treceri pe medii solide de diagnostic, Drigalski sau altele.

Mediul cu selenit de sodiu dă la fel bune rezultate. Ziliştean u şi colaboratorii (1955) recomandă ca mediu de îmbogăţire, pentru izolarea bacilului tific din materiile fecale, un bulion cu 0,4% selenit de sodiu, mediu care s-a arătat superior celui cu 0,2% selenit de sodiu sau celui cu acid boric 1%. Trecerile, din mediul de îmbogăţire, pe mediul de izolare, se fac cu cele mai bune rezultate, după 18—20 de ore.

Mediul Slăvoacă. Slăvoacă recomandă, pentru îmbogăţire, un mediu avînd următoarea compoziţie:

bilă	10 ml
soluţie de sulfit de sodiu 20%	0,5 ml
cristal violet, soluţie apoasă 1%	0,2 ml

*

Aceste diverse medii lichide se însămînţează cu materialul de cercetat. De exemplu, cîteva picături dintr-o suspensie groasă de materii fecale, sau cîteva picături de urină nediluată, sau în cazul în care materialul de examinat este reprezentat printr-o apă, aceasta se amestecă în proporţii egale cu mediul, şi anume 1 parte apă şi 1 parte mediu. O primă transplantare se face pe medii selective după 3—6 ore şi a doua după 20 de ore la termostat. Materiile fecale, în vederea examenului bacteriologic, se trimit la laborator în următorul amestec în prealabil sterilizat:

250 g	glicerină
750 g	apă distilată
5 g	clorură de sodiu

Mediile solide selective şi indicatoare sau medii de izolare

Mediul Drigalski

Zeamă de carne	(după necesităţi)
Peptonă (Witte)	1%
Clorură de sodiu	0,3%
Fosfat disodic	0,2%
Agar fibre	2—2,25%
Tinctură turnesol	15%
Lactoză	1,5%
Cristal violet (inhibitor pentru Gram pozitivi)	1/200 000

Mediul Vogelsang

Bulion peptonat	(după necesităţi)
Agar	3%
Lactoză	1%
Zaharoză	1%
Tiosulfat de sodiu	0,1%
Albastru de bromtimol (soluţie alcoolică 0,2%)	4%
Cristal violet (soluţie apoasă 0,1%)	0,5%

Agarul cu verde brillant

Apă	(după necesităţi)
Peptonă Riedel	1%
Extract de carne Liebig	0,5%
ClNa	0,5%
Lactoză	1,5%
Soluţie de roşu fenol	4%
Soluţie 0,5% de verde brillant	0,3 — 0,35%
Agar	2 — 2,25%

pH= 7— 7,2

Soluţia de roşu fenol se prepară astfel: 40 ml de NaOH n/10 + 460 ml de apă distilată + 1 g de roşu fenol.

Mediul lui Wilson şi Blair

Se prepară următoarele soluţii:

1. Soluţie de citrat de bismut amoniacal: se dizolvă 6 g de *Bismutum ammonium citricum* in lamellis în 50 ml de apă distilată încălzită la 100°C. Se neutralizează amestecul cu aproximativ 2 ml de soluţie 1% de NaOH.
2. Soluţie de sulfit de sodiu. Se dizolvă 20 g de sulfit de sodiu anhidru în 100 ml de apă. Lichidul se fierbe şi i se adaugă 10 g de fosfat disodic anhidru.
3. Soluţie 20% de glucoză.
4. Soluţie 8% de sulfat feros (care nu conţine sulfat feric).
5. Soluţie 0,5%, în apă, de verde brillant.

Prepararea mediului

La 100 g de agar nutritiv 3%, steril, topit şi încă fierbinte se adaugă, aseptic:

5 ml	soluţie glucozată
10 ml	soluţie de sulfit de sodiu

5 ml	soluție de citrat de bismut amoniacal
0,5 ml	soluție de verde brillant 0,5%
1 ml	soluție de sulfat feros 8%.

Mediul se agită mereu în timpul adăugirii acestor substanțe, se distribuie apoi în plăci sterile și, după solidificare, se însămînțează. Coloniile de paratifici sînt uscate, aderente mediului, de culoare neagră, adesea cu luciu metalic și cele de coli sînt tot negre, dar grase, noroioase.

*

Mediul Istrati-Meitert (1953) poate fi folosit pentru însămînțări directe cu materiale infectate (fecale), dînd bune rezultate. El este constituit din:

bilă de bou uscată la 105°C	8 g
citrat de sodiu cristalizat	8 g
lactoză	15 g
hiposulfit de sodiu	8,5 g
citrat de fier neutru	2 g

Aceste substanțe se pun într-un balon de 1,5 — 2 l și peste ele se varsă 1 l de geloză nutritivă cu pH = 7,2 — 7,4. Se agită bine și se adaugă întîi soluție de albastru de bromtimol (40 ml dintr-o soluție care conține 1 g de albastru de bromtimol, 25 ml de soluție de sodă n/1 și 475 ml de apă distilată sterilă), pînă ce mediul se colorează în verde (nu albastru).

Se fierbe 15 minute pe baie de apă. Se toarnă în plăci Petri.

Pe acest mediu coloniile de *Salmonella* și *Shigella* sînt albastre-verzui, cele de colibacili sînt galbene, cele de *Proteus* sînt albastre-verzui, cu ochi negru și neinvadante.

Mediul Levin

Peptonă	10 g
Fosfat bipotasic anhidru	2 g
Agar spălat	15 g
Apă distilată	1 000 ml

Amestecul se fierbe pînă la dizolvarea substanțelor, apoi se aduce la volumul inițial și se ajustează pH-ul la 7,2 — 7,4. Mediul repartizat în sticle se sterilizează printr-o încălzire de 30 minute la autoclav (120°C) și se conservă în laborator. Pentru întrebuințare, mediul se dizolvă prin încălzire și apoi pentru fiecare 100 ml se adaugă:

soluție sterilă 80% de lactoză	5 ml
soluție eozină galbenă 2%	2 ml
soluție albastru de metilen 0,5%	1,3 ml

și se repartizează în plăci Petri. Mediul are o culoare roz-violet. Pe acest mediu, colibacilul formează colonii albastre, aurii sau violet, cu reflex metalic, proteusul colonii izolate, neinvadante, opace, roz, uneori mucoase, cu centrul violet-închis, *Salmonella* și *Shigella* colonii transparente, roz, fără nici o modificare a mediului.

Badenski și Ionescu (1955) dau o formulă de mediu uscat, care se conservă, în laborator, sub formă de pulbere și se solubilizează la nevoie în apă distilată.

Proprietăţi biochimice

Diferenţierea dintre salmonele şi alte specii Gram negative se face şi prin studiul proprietăţilor fermentative. Salmonelele fermentează regulat glucoza, dar nu atacă lactoza, ceea ce le deosebeşte de colibacili, şi nici zaharoza, ceea ce le distinge de pasteurele. Spre deosebire de colibacili şi pasteurele, salmonelele nu produc indol. Se dezvoltă, spre deosebire de pasteurele în apă de levură, în bilă de bou (Cernăianu) şi pe geloză sărată 4%.

Salmonelele nu lichefiază gelatina şi, de regulă, nu coagulează laptele.

Diferenţierea speciilor din genul *Salmonella* prin mijloace culturale şi biochimice întîmpină dificultăţi, din cauză că proprietăţile fermentative variază, pentru acelaşi tip, de la o tulpină la alta. Astfel, în cadrul speciei *Salm. paratyphi B.* se recunosc mai multe tipuri fermentative; aceste diverse tipuri nu se deosebesc între ele nici din punct de vedere serologic, nici epidemiologic. Tulpinile de *Salm. typhosa* se împart în două grupe, după cum atacă sau nu atacă xiloza; epidemiologic, cele două feluri de tulpini se comportă la fel. Fermentarea sau nefermentarea xilozei permite, într-o oarecare măsură, să stabilim originea unei epidemii; astfel o tulpină xilozo-pozitivă va da naştere la o epidemie în care germenii izolaţi vor fi toţi xilozo-pozitivi şi invers. Proprietăţile fermentative singure constituie, uneori, criterii de diferenţiere a două specii. Astfel, *Salm. gallinarum* nu se distinge serologic de *Salm. pullorum,* dar cele două specii se deosebesc prin modul de comportare faţă de unele substanţe hidrocarbonate; *Salm. gallinarum,* de exemplu, fermentează maltoza în timp ce *Salm. pullorum,* de obicei, nu; acest caracter este de altfel foarte labil. Popovici şi Bica (1950) au arătat că tulpinile de *pullorum* pot cîştiga această însuşire.

Cu toată labilitatea lor, metodele culturale de cercetare şi diagnostic nu au fost părăsite şi, împreună cu mijloacele serologice, permit diagnosticul sigur al unui tip din genul *Salmonella.* Se recomandă, ca, pentru diagnosticul cultural al unei tulpini, să se examineze 1) modul de comportare prin zer turnesolat (a se vedea mai jos modul de preparare); 2) producţia de gaz în apă peptonată cu dextroză; 3) acţiunea fermentativă asupra manitei, maltozei, arabinozei, dulcitei, sorbitei, inositei, ramnozei, glicerinei, xilozei, trehalozei, dextrinei, d-tartratului; 4) producţia de hidrogen sulfurat. S-a stabilit modul de comportare a diverselor tipuri de *Salmonella* în aceste diverse medii şi rezultatele sînt consemnate în tabelul 13. Rezultatele examenului cultural sînt cu atît mai precise şi au deci o valoare de diagnostic mai mare cu cît examinarea se face în mai bune condiţii. Mediile trebuie să fie corect preparate, substanţele să fie chimic pure, peptona să fie mereu aceeaşi etc.

Medii folosite pentru diagnosticul diferenţial al tipurilor de Salmonella

Zerul turnesolat se găseşte preparat gata în comerţ, dar se poate prepara şi în laborator. In acest scop, laptele ecremat se coagulează fie cu presură la temperatura de 40°C, fie cu acid acetic sau clorhidric; după 2 ore, cheagul format se taie în bucăţi mici şi totul se trece printr-o pînză fină. Lichidul obţinut se alcalinizează cu sodă (culoarea roşie vie a fenolftaleinei) şi pentru fiecare litru se adaugă 2 g Cl_2Ca cristalizată; se încălzeşte 15 minute la 110°C; se trece prin hîrtie de filtru pînă se obţine un lichid limpede; se adaugă tinctură de turnesol (soluţie 2%) pînă ce culoarea devine violet-închis; filtrare prin bujie sau Seitz, repartizare în tuburi, controlul sterilităţii.

Apa peptonată cu diverse substanţe hidrocarbonate. Peptonă 10 g; ClNa 5 g; hidrat de carbon 5 g; apă distilată 1 000 ml; pH în jurul lui 7,4; indicator albastru de bromtimol; pentru 1 l se pun 12 ml din următoarea soluţie: 1 g albastru de bromtimol + 25 ml de NaOH n/10 + 475 ml de apă distilată. Mediul trebuie să aibă culoarea albastră-verzuie.

Ramnoza Bitter

Compoziţie

Fosfat disodic	0.5 g
Sulfat de amoniu	1 g
Citrat de sodiu	2 g
ClNa	5 g
Peptonă	0.05 g
Ramnoză Merk	0.5 g
Apă distilată	1 000 ml

Toate substanţele se amestecă în apă şi amestecul se fierbe 30 de minute la autoclav, se trece apoi prin hîrtie de filtru, se distribuie în tuburi şi se sterilizează 2 zile consecutiv, cîte 1/2 oră, la 100°C, la autoclav. Indicatorul — două picături dintr-o soluţie alcoolică 0,5% roşu de metil — se adaugă după însămînţare şi după o incubaţie de 15—20 de ore la 37°C. Mediul, în caz de acidifiere, se colorează, în prezenţa indicatorului, în roşu.

Mediul cu d-tartrat se prepară astfel:

Soluţia I

Extract de carne Liebig	10 g
Peptonă	20 g
ClNa	5 g
Apă distilată	1 000 g

Soluţia II. Soluţie saturată de fucsină în alcool de 96°
Soluţia III. Soluţie apoasă 10% din sulfit de sodiu.

Prepararea mediului

Soluţia I	100 ml
Soluţia II	5—6 picături
Soluţia III	2 ml
Glicerină	0.5—1 g

Amestecul se repartizează în tuburi şi se sterilizează 2 zile consecutiv, cîte 30 de minute la 100°C la autoclav. pH = 8. Mediul se păstrează la rece şi la întuneric; în prezenţa acizilor se înroşeşte.

Mediul cu d-tartrat

d-tartrat (Kalium-natrium-tartrat d- acid acetic)	1 g
Peptonă	1 g
Apă distilată	100 ml
Albastru de bromtimol 1%	0.25 ml

Peptona poate fi înlocuită prin bulion-tripsină, preparat după următoarea metodă.

Tripsină	0,2 g
Cloroform	10 g
Bulion uşor alcalin	100 ml

Amestecul se ţine 24 de ore la 37°C, agitîndu-se cît mai frecvent, apoi se filtrează şi se diluează cu apă fiziologică în proporţie de 1/4; se sterilizează, încălzindu-l, 2 zile consecutiv, cîte 30 de minute la 100°C, la autoclav

Mediul cu d-tartrat se prepară astfel:

Bulion tripsină pH = 7,4	100 ml
d-tartrat	1 g
Soluţie de alb de bromtimol 1%	2,5 ml

Amestecul se distribuie în tuburi şi se fierbe, pentru sterilizare, 20—25 de minute la 100°C, la autoclav.

Producţia de SH_2 se pune în evidenţă în *medii cu acetat de plumb;* la 100 ml de agar se adaugă 2 ml dintr-o soluţie 5% de acetat de plumb; mediile însămînţate, în cazul producţiei de SH_2, se colorează în negru din cauza sulfurii de plumb care ia naştere.

Medii de întreţinere

Conservarea în mai bune condiţii, a proprietăţilor biochimice şi serologice a unei tulpini de *Salmonella* se realizează pe ou coagulat. Mediul se prepară astfel: 3 părţi ou (gălbenuş şi albuş) se amestecă cu 1 parte de apă fiziologică; totul se agită bine cu perle, se distribuie în tuburi şi se solidifică în poziţie înclinată prin două încălziri succesive, în coagulator, de cîte 2 ore, la 24 de ore interval. Prima încălzire se face la 80—85°, a doua la 75—80°.

Diferenţierea salmonelelor prin mijloace serologice

Structura antigenică. Salmonelele mobile posedă două grupe de antigeni: o grupă somatică, termostabilă şi alta ciliară sau flagerală, termolabilă. Antigenii somatici, numiţi şi antigeni O, legaţi de corpul bacterian, se găsesc atît la bacteriile mobile, cît şi la cele imobile; din contra, antigenii flagelari, numiţi şi antigene H, sînt absenţi în culturile imobile şi prezenţi în cele care conţin germeni mobili, ciliaţi.

Antigenul O. În 1929 s-a extras din culturile de salmonelă un polizaharid; acesta era lipsit de antigenitate, însă era precipitat de serul somatic respectiv; substanţa era deci o haptenă. Antigenul complet, adică substanţa care se găseşte în corpul celulei bacteriene şi care provoacă formarea anticorpilor, în cazul inoculării culturilor integrale, a fost izolat de Boivin şi soţii Mesrobeanu, în 1933, la Bucureşti. Natura chimică şi proprietăţile serologice ale substanţei izolate au fost în amănunt studiate. Antigenul complet este, din punct de vedere chimic, un complex glucido-lipido-polipeptidic; el se poate desface, liberînd fracţia glucidică, care se comportă ca un antigen incomplet, o haptenă. Antigenul complet, inoculat la animale de experienţă, provoacă anticorpi, care precipită substanţa respectivă şi aglutinează bacteriile, din care substanţa a fost extrasă, în aceleaşi condiţii ca şi un ser preparat cu culturi integrale. Substanța glucido-lipido-polipetidică, la rîndul ei, este precipitată de un ser imun, preparat cu o suspensie bacteriană identică cu aceea din care substanța a fost extrasă. Antigenul este termostabil și poate fi izolat de la formele S ale bacteriilor mobile sau imobile. Originea acestei substanțe, cît și proprietățile sale chimice (termorezistența) și serologice dovedesc că ea este identică cu antigenul O somatic.

Antigenul O somatic nu este același la toate speciile de *Salmonella,* dar nu este nici diferit, chimic și serologic, pentru fiecare specie. Cercetările făcute în această privință au arătat că mai multe specii pot avea comun unul sau toți antigenii lor somatici. Speciile care au cel puțin un antigen comun și care deci sînt aglutinate de un ser somatic preparat cu una din ele constituie, în schema Kauffmann-White, o grupă serologică. In genul *Salmonella* există mai multe asemenea grupe notate cu A, B, C, D, E etc. Substanța glucido-lipido-polipeptidică, izolată de la un germen din grupa B, de exemplu, este, în parte sau în totalitatea sa, identică cu a tuturor germenilor care fac parte din aceeași grupă.

Antigenul O somatic se găsește la germenii mobili sau imobili, care, cultural și morfologic, aparțin formei S, și, dimpotrivă, el lipsește la formele R. De la acestea din urmă se izolează un antigen somatic care este același la toate salmonelele. În consecință, un ser somatic preparat cu o variantă R a unei tulpini de *Salmonella* va aglutina toate variantele R ale speciilor din acest gen.

Antigenul H. Antigenii flagelari ai unei specii de *Salmonella* pot fi monofazici și difazici. Speciile difazice pot prezenta o fază specifică și alta nespecifică sau ambele faze sînt specifice, însă diferite una de alta. Faza specifică corespunde unei structuri chimice flagelare proprie fiecărui tip de *Salmonella;* în consecință inoculînd, la un animal, o cultură care se găsește într-o asemenea fază vom obține un ser care va aglutina numai specia respectivă, în faza sa specifică. *Salm. paratyphi A* conține, în faza sa specifică, un antigen flagelar, numit convențional a, care va produce anticorpi activi numai față de paratificii A, în faza lor specifică. O serie întreagă de salmonele se comportă ca paratificul A. S-a mai observat că, la unele specii, faza specifică a antigenului flagelar nu este mereu aceeași; astfel, tipul Dar-es-salaam, ca și alte tipuri, prezintă două faze specifice, notate: faza I și faza a II-a; în faza I antigenul flagelar este e.n., iar în faza a II-a 1 w. La alte specii de *Salmonella* faza specifică alternează cu o fază nespecifică. Germenii care sînt în această din urmă fază conțin, în cilii lor, substanțe antigenice comune cu o serie întreagă de alte specii; așa cum se vede și în schemă, antigenul notat cu 1 îl găsim la toate speciile care au o fază nespecifică. Un ser preparat cu o asemenea cultură va fi lipsit de orice specificitate, deoarece va aglutina toate salmonelele în faza lor nespecifică.

Cilii, în faza specifică sau nespecifică, conțin, de cele mai multe ori, mai mulți antigeni. În faza lor nespecifică, germenii pe lîngă antigenul 1, comun tuturor speciilor care au această fază, mai au, în cilii lor, antigeni notați cu 2,3,4,5 care nu se găsesc decît la un număr restrîns de specii.

Natura chimică a antigenilor ciliari este necunoscută; acești antigeni sînt constituiți din substanțe extrem de labile, care nu rezistă la fierbere și se distrug sub influența alcoolului etilic.

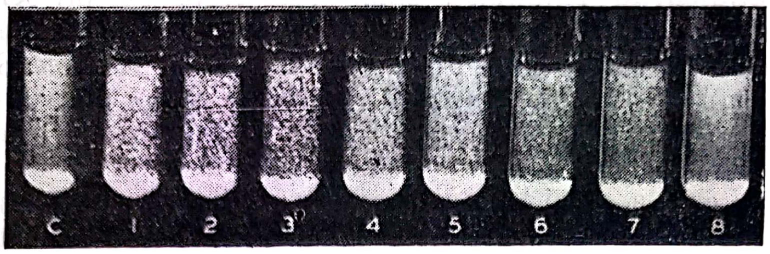


Fig. 22 — Aglutinarea flagelară la *Salmonella* (din Jordan-Burrows, 1950)

c — martor; în tuburile 1, 2, 3,...8 diluții crescînde de ser aglutinant

Antigenii flagelari nu sînt influențați de disocierea bacterină și, prin urmare, formele S și R ale unei specii au aceeași structură antigenică flagelară.

Alternanța fazelor. Faza specifică alternează, la speciile difazice, cu faza nespecifică. Direct din organe sau din urină, materii fecale, se pot izola tulpini care se găsesc în faza specifică și care își conservă acest caracter timp de 1 lună sau chiar mai mult; de cele mai multe ori, însă, o tulpină, aparținînd unei specii difazice, este alcătuită dintr-un amestec de faze. Izolînd, prin metode bacteriologice o tulpină în faza sa specifică, se observă o tendință a germenilor de a se disocia și a da naștere la germeni care se găsesc în faza nespecifică. Această tendință este limitată la un procent de 1—10% de germeni. Pentru a păstra o tulpină în faza voită, trebuie ca transplantările să fie făcute din colonii izolate care, în prealabil, au fost examinate serologic cu seruri specifice sau nespecifice. O colonie specifică, prin transplantare, va da, de exemplu, 90% colonii specifice și 10% nespecifice; fără un control serologic prealabil putem transplanta una din aceste din urmă colonii, schimbînd astfel total și complet faza tulpinii.

Unele tulpini, deși aparțin unui tip difazic, nu se disociază decît foarte greu; din asemenea tulpini nu se poate izola, prin metode bacteriologice, faza ascunsă, de obicei faza specifică. Pentru a înlesni apariția fazei absente se cultivă tulpinile în bulion cu ser homolog de fază nespecifică. De exemplu, *Salm. typhi-murium,* în faza nespecifică, este cultivată în bulion cu ser imun obținut prin inocularea unor germeni care se găsesc de asemenea în faza nespecifică; din culturile pe medii cu un asemenea ser inhibant pentru germenii în faza nespecifică se fac zilnic transplantări pe agar în plăci și coloniile izolate sînt examinate serologic putînd descoperi astfel germenii în faza specifică. S-a aplicat cu succes, în scopul izolării fazelor, metoda lui Sven Gard: 20 ml de bulion cu agar 0,8% se amestecă cu o picătură de ser aglutinant convenabil diluat și totul se toarnă într-o placă Petri; însămînțarea culturii difazice se face după solidificare și numai în centrul plăcii. Serul aglutinant, care trebuie să conțină anticorpi H, va imobiliza germenii care conțin antigenul corespunzător anticorpului; dacă serul este specific el va imobiliza cilii și mișcările germenilor care se găsesc în faza specifică, în timp ce germenii care se găsesc în faza nespecifică își vor conserva mobilitatea și vor roi de la punctul de însămînțare, răspîndindu-se pe toată suprafața plăcii și putîndu-i izola singuri de la un punct cît mai depărtat de locul de însămînțare; se întîmplă invers și izolăm faza specifică dacă serul adăugat a fost nespecific și a paralizat mișcările germenilor care se găseau în această fază.

Prepararea serurilor aglutinante. *Seruri anti-O* se pot obține, cu ușurință. În acest scop inoculăm la animale de experiență — de preferință iepuri — fie rase imobile, fie culturi mobile, la care antigenul flagelar a fost distrus prin fierbere, — 1—2 ore la 100°C — sau prin alcool. Nu se recomandă omorîrea germenilor prin formol, deoarece acesta alterează antigenul O. Suspensia bacteriană se inoculează pe cale intravenoasă ; culturile vii de germeni virulenți pot produce moartea animalelor în cursul imunizării și de aceea se preferă culturile moarte. Chiar sub această formă dozele nu trebuie să fie prea mari, pentru că germenii, mai ales ai unor specii, sînt toxici și omoară animalele. În vederea preparării serului aglutinant se fac patru injecții la 5 zile interval, respectiv cu 0,2, 0,5, 1 și 1,5 ml de cultură în bulion sau suspensia dintr-o cultură pe agar. Sîngerarea se face 5 zile după ultima injecție.

Titrul serurilor aglutinante somatice spre deosebire de a celor flagelare, nu este mare ; el este de 1/400, 1/800, în timp ce serul flagelar poate aglutina o suspensie de germeni mobili la o diluție de 1/20 000, 1/40 000 sau mai mult. Tipul de aglutinare produs de serul somatic și de cel flagelar este diferit : serul somatic O produce o aglutinare de tip granular, care nu este vizibilă înainte de 2 ore la 37°C ; granulele constituite nu se desfac prin agitare. Serul flagelar H produce o aglutinare de tip floconos ; flocoanele se constituie repede după amestecul cu ser și sînt net vizibile după $^1/_2$ oră la 37°C, ele se desfac ușor prin agitare. Microscopic, acțiunea unui ser somatic se deosebește de a unui ser flagelar : primul provoacă o lipire polară a bacteriilor, cilii păstrîndu-și mobilitatea ; grămezile de bacterii aglutinate pot fi chiar mobile. Serul H produce o paralizie a cililor, bacteriile, în prezența sa, pierzîndu-și mobilitatea.

Serurile anti-Vi se prepară pe iepure, folosind drept antigen suspensiile unor germeni bogați în antigeni Vi, de regulă, tulpina *Salm. ballerup.*

Inoculările se fac după același protocol. Serul obținut este absorbit de anticorpii săi O printr-un antigen fiert — prin fierbere se distrug antigenii Vi, dar nu antigeni O — obținîndu-se astfel un ser pur anti-Vi.

Serurile H flagelare se prepară în condiții similare. Antigenul se prepară din culturi tinere — 16—20 de ore în bulion sau pe agar ; tulpina folosită trebuie să fie mobilă și în faza dorită. Germenii se omoară prin căldură : $^1/_2$—1 oră la 58—60°C sau prin formol 0,5% ; nici temperatura de 58—60°C nici formolul nu alterează antigenul flagelar. Antigenul, dacă este păstrat la rece, poate servi atît cît durează imunizarea unei serii de animale.

Serurile aglutinante sterile, păstrate la rece și la întuneric, conservă 1 an sau mai mult activitatea lor.

Determinarea tipului serologic al unei tulpini

Determinarea tipului serologic al unei tulpini de salmonelă, se face prin seroaglutinare ; aceasta se poate face rapid pe lamă, în picătură suspendată la microscop sau în tuburi cu diverse diluții de ser.

Aglutinarea rapidă pe lamă este socotită, de Kauffmann, ca metodă fundamentală; rezultatele ei sînt precise și nu au nevoie de o verificare prin alte metode.

Pentru a determina natura antigenului somatic al unei tulpini se folosesc seruri somatice pure; pentru antigenul flagelar se recurge la seruri mixte, dar în diluţii de 1/100, 1/200 sau mai mult, diluţii la care ele nu mai sînt active pentru antigenul somatic (conţinutul în aglutinine O al unui ser este așa cum am spus mai sus, redus).

Pe o lamă se pun mai multe picături din diferite diluţii de ser: 1/10, 1/20 etc., pentru aglutinarea somatică, și 1/100, 1/200 etc. pentru cea flagelară. În fiecare picătură de ser se omogenizează, cu un ac de însămînţare, o porţiune din cultura de examinat, luată de pe agar, astfel ca să se obţină o suspensie lăptoasă. Pentru a controla stabilitatea culturii se face, pe aceeași lamă, o suspensie analoagă, însă nu în ser imun, ci în apă fiziologică. Aglutinarea, în cazul cînd germenii conţin un antigen corespunzător anticorpului din ser, se produce spontan sau în cîteva minute; reacţia se citește cu ochii liberi sau cu lupa.

Aglutinarea în tuburi. O-aglutinarea se face cu seruri O pure sau cu seruri mixte, O și H. În cazul folosirii serurilor mixte, suspensia bacteriană nu trebuie să conţină antigeni flagelari; aceștia se distrug prin fierberea suspensiei timp de 1 oră. Suspensia poate fi o cultură în bulion de 24 de ore sau o cultură pe agar de 24 de ore, pusă în apă fiziologică. Serul se diluează 1/10, 1/20, 1/40 etc., pînă ce se atinge titrul aglutinant maxim al serului. În tuburi, se amestecă 0,5 ml de suspensie bacteriană și 0,5 ml din diluţia de ser. Reacţia se citește, în cazul suspensiilor de pe agar, după 2 ore la 37°C sau la 50°C în baia de apă, și după încă 20 de ore la temperatura camerei. În cazul cînd antigenul este constituit dintr-o cultură în bulion, aglutinarea nu apare înainte de 4 ore. Citirea se face după 4 și 16—20 de ore la 50°C, în baia de apă. Aglutinarea, într-un caz și în altul, este de tip granular.

Aglutinarea H se execută în condiţii similare cu un ser mixt, astfel diluat încît să nu mai fie activ faţă de antigenul somatic. Antigenul este constituit din suspensii bacteriene din cultură pe agar în apă fiziologică sau din culturi de 16—20 de ore în bulion; suspensiile se formolează 0,2%. Kauffmann recomandă, în mod special, culturile în bulion; acestea sînt mai sensibile și sterile, se pot conserva la gheţar, iar aglutinarea de tip O este inhibată prin formol. Prima citire a reacţiei se face după ½ oră la 37°C, a doua și ultima după 2 ore, la aceeași temperatură. Aglutinarea este de tip floconos: tuburile nu trebuie agitate, pentru că flocoanele se omogenizează ușor și reacţia devine astfel invizibilă.

Diagnosticul tipurilor de Salmonella prin metoda absorbţiei aglutininelor dintr-un ser (metoda Castellani). Unele specii de *Salmonella* au antigeni somatici și flagelari comuni, dar au și antigeni proprii. Distincţia serologică între aceste tipuri apropiate se face prin metoda absorbţiei aglutininelor. O tulpină *a* este identică serologic cu o altă tulpină *b*, atunci cînd serul imun *A*, preparat cu tulpina *a*, este epuizat de germenii tulpinii *b*, iar serul tulpinii *b* este epuizat de germenii tulpinii *a*. Tulpina *a* nu are aceeași structură antigenică cu *b*, cînd serurile respective nu sînt epuizate de anticorpi, și anume serul *A* prin cultura *B* și serul *B* prin cultura *a*. Diversele posibilități care se pot întîlni cînd examinăm, paralel, două tulpini și serurile lor respective, sînt rezumate mai jos (după Kauffmann).

CAZUL I

Ser *A* tratat cu tulpina *a* = aglutinarea negativă pentru *a* și *b*
Ser *A* „ „ „ *b* = „ „ „ *a* și *b*
Ser *B* „ „ „ *a* = „ „ „ *a* și *b*
Ser *B* „ „ „ *b* = „ „ „ *a* și *b*

Cele două tulpini examinate sînt serologic identice.

CAZUL II

Ser *A* tratat cu tulpina *a* = aglutinarea negativă pentru *a* și *b*
Ser *A* „ „ „ *b* = „ pozitivă „ *a* și negativă pentru *b*
Ser *B* „ „ „ *a* = „ „ „ *b* și negativă „ *a*
Ser *B* „ „ „ *b* = „ negativă „ *a* și *b*

Tulpina *a* nu este identică cu *b*; fiecare tulpină are cîte doi antigeni, unul comun și altul propriu; formula antigenică a tulpinii *a* este 1,2, iar a tulpinii *b*, 1,3.

CAZUL III

Ser *A* tratat cu tulpina *a* = aglutinarea negativă pentru *a* și *b*
Ser *A* „ „ „ *b* = „ pozitivă „ *a* și negativă pentru *b*
Ser *B* „ „ „ *a* = „ negativă „ *a* și *b*
Ser *B* „ „ „ *b* = „ „ „ *a* și *b*

Tulpinile nu sînt identice; antigenic, tulpina *a* este mai complexă decît tulpina *b*, întrucît tulpina *a* epuizează serul *B*, dar tulpina *b* nu epuizează serul *A*. Formula antigenică a tulpinilor este: *a* = 1,2; *b* = 1.

CAZUL IV

Ser *A* tratat cu tulpina *a* = aglutinarea negativă pentru *a* și *b*
Ser *A* „ „ „ *b* = „ „ „ *a* și *b*
Ser *B* „ „ „ *a* = „ pozitivă „ *b* și negativă pentru *a*
Ser *B* „ „ „ *b* = „ negativă „ *a* și *b*

Cazul IV este asemănător cazului III; de data aceasta însă tulpina *b* este mai complexă, din punct de vedere al structurii antigenice, decît tulpina *a*.

Kauffmann execută reacția de absorbție a aglutininelor dintr-un ser în modul următor: la 5 ml de ser diluat 1/100, pentru un ser cu un titru flagelar 1/10 000, se adaugă 5 ml de suspensie bacteriană vie sau moartă și amestecul se ține 2 ore la 37°C și încă 20 de ore la temperatura camerei. Se face apoi centrifugarea; lichidul clar conține serul absorbit diluat 1/200 și poate fi cercetat, prin metodele obișnuite, în ceea ce privește conținutul său în aglutinine, paralel cu un ser-martor, neabsorbit, care a fost diluat 1/200 și ținut 2 ore la 37°C și 20 de ore la temperatura camerei.

* * *

Metodele serologice de diagnostic permit să se precizeze tipul căruia aparţine o tulpină de salmonelă. Pentru realizarea acestui scop sînt necesare seruri O şi seruri H, specifice şi nespecifice. Grupa căreia aparţine o tulpină se determină cu ajutorul serurilor somatice.

O dată precizată grupa căreia aparţine o tulpină, urmează să se determine tipul ei şi se recurge, în acest scop, de regulă la seruri H specifice.

Aglutinarea prin acridine. Sertic şi Boulgakov (1936) au observat că tulpinile mobile de *Salmonella* sînt aglutinate în soluţii de tripaflavină. Aglutinarea este de tip flagelar şi se datoreşte acţiunii substanţei asupra cililor ce se găsesc în faza nespecifică. Bernştein şi Lederberg (1955) confirmă aceste cercetări, arătînd însă că şi cilii din faza I specifică, sînt sensibili faţă de acţiunea aglutinantă a acridinelor, dar la alte concentraţii de substanţă. Diferenţele ce se constată, din acest punct de vedere, între fazele I şi a II-a sînt de ordin cantitativ şi nu calitativ.

Bacteriofagul este de asemenea folosit ca mijloc de diferenţiere a tipurilor de *Salmonella;* unele tulpini de fag, aşa cum au arătat diverşi autori, au mare specificitate de acţiune şi rezultatele obţinute sînt tot aşa de valabile ca şi cele date de metodele serologice (Cherry şi col., 1954). Wassermann şi Saphra (1955) arată, în acelaşi sens, că prin fag se obţine aceleaşi rezultate ca şi cu serurile O de grupă. Există o relaţie, aşa cum au arătat Sertic şi Boulgakov (1936), între structura antigenică şi sensibilitatea la un anumit fag, ceea ce se explică prin aceea că fixarea bacteriofagului pe celulă se datorşte afinităţii dintre el şi aglutinogen.

PATOGENITATEA SALMONELELOR

Infecţia experimentală

Salmonelele conţin, în soma lor, substanţe toxice; complexul glucido-lipido-polipeptidic şi complexul nucleoproteinic au putut fi izolate din diversele specii ale genului şi activitatea lor toxică a putut fi determinată. Aceste complexe să găsesc şi în filtratele provenind din culturi vechi. Prezenţa lor în filtrate este datorită, în special, proceselor de autoliză.

Corpii microbieni sînt toxici pentru animalele de laborator şi inoculaţi, în special, pe cale intravenoasă, la iepure, produc moartea animalului în condiţii şi cu simptome asemănătoare celor provocate de toxinele respective.

Infecţia experimentală se poate realiza, la animale de laborator şi domestice, dar ea nu reproduce simptomele infecţiei naturale decît la unele specii. Administrările parenterale produc toxiinfecţii cu evoluţie rapidă şi cu răspîndirea germenilor în sînge. Diversele căi de administrare nu sînt egal de severe. Calea intravenoasă este mai severă ca alte căi, intradermică, subcutană etc. Administrările pe cale digestivă nu reproduc infecţia decît la unele animale. Şoarecele, dintre animalele de laborator, este cel mai sensibil pe această cale şi la el tulpinile patogene produc o infecţie mortală, cu o evoluţie de 5—10 zile şi cu prezenţa leziunilor caracteristice în organe, în special, focare necrotice tipice în ficat. Tulpinile unor specii de *Salmonella,* cum sînt *Salm. typhi-murium, Salm. suipestifer, Salm. enteritidis* Gärtner, inoculate, pe cale subcutană, la şoareci, produc o infecție mortală, într-un timp care variază de la 1 la 20 de zile. Doza minimă mortală variază în raport cu tulpina, dar majoritatea tulpinilor omoară, în aceste condiții, șoarecele în doza de 10^{-5}—10^{-6} ml de cultură în bulion de 24 de ore. Șoarecii inoculați cu doze mici mor după 10—20 de zile prezentînd la autopsie hipertrofia splinei și a ficatului. Pe ficat se găsesc aproape constant zone necrotice întinse. Tulpinile de *Salm. pullorum* sau *Salm. gallinarum* nu sînt patogene, pe cale subcutană pentru șoarece nici chiar în doză de 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore. De asemenea sînt puțin patogene sau chiar apatogene tulpinile de *Salm. abortus ovis*

INFECȚIILE SALMONELICE NATURALE

Salmoneloze umane

Clinic și bacteriologic se disting, la om, trei salmoneloze, și anume: 1) tifosul abdominal sau febra tifoidă; 2) paratifosul; 3) gastroenterita paratifică sau toxiinfecțiile alimentare salmonelice.

Febra tifoidă

Febra tifoidă, tifosul abdominal sau tifosul este produsă de *Salm. typhosa*. Boala este cunoscută din vechime, dar a fost confundată, pînă la descoperirea și identificarea agentului său etiologic de către Eberth (1880), cu alte infecții.

Etiologie. *Salmonella typhosa* aparține grupei serologice *D*. Ea este patogenă, în condiții naturale, numai pentru om, și nu a fost găsită niciodată la animale; chiar experimental germenul nu infectează decît în anumite condiții și în doze masive, animalele de experiență. Bacilii, inoculați în doze mari, pe cale subcutană, la cobai, produc cel mult un abces; nu se observă o multiplicare a bacteriilor în organism, dar animalul poate muri intoxicat. Inoculată, în peritoneu, bacteria poate provoca o peritonită mortală. Calea intracerebrală este considerată ca cea mai severă: 0,1—0,5 ml de cultură omoară, pe această cale, iepurele și cobaiul. Tulpinile de bacili tifici sînt, după unii cercetători, mult mai active pentru animalele de experiență dacă sînt inoculate o dată cu alte culturi — streptococ, colibacil — chiar dacă acestea sînt moarte. Ele produc, în acest caz, septicemii și, după cîteva asemenea treceri își exaltează virulența, putînd omorî singure cobaiul. Șoarecele este sensibil, și în cazul inoculării intraperitoneale el face o infecție mortală în 8—20 ore. Germenii culturilor tinere — 2 ore de incubație — sînt de opt ori mai virulenți ca cei din culturile de 20 ore (Magheru și col., 1956). Animalele de laborator nu pot fi infectate pe cale digestivă. Maimuțele antropoide — cimpanzeul și gibonul — fac, în urma ingestiei de bacili tifici, o infecție asemănătoare celei umane.

Patogenie și epidemiologie. Infecția la om se face pe cale digestivă, germenii fiind introduși, de regulă, în organism o dată cu apa sau alimentele. Infecția se poate transmite rar direct, prin contactul dintre bolnav sau purtător și omul sănătos. Epidemiile hidrice sau alimentare au caracter explosiv, cele de contagiune caracter sporadic. Animalele nu poartă germenul şi în consecinţă nu pot constitui o sursă de infecţie pentru om. Germenii ajunşi într-un fel sau altul în tubul digestiv, trec prin stomac, deoarece rezistă la acţiunea sucului gastric şi ajung în intestin, unde se pot, într-o oarecare măsură, multiplica ; traversează peretele intestinal, fără a-l leza şi ajung, astfel, în torentul limfatic şi apoi în ganglionii mezenterici unde produc primele leziuni ; de aici, ei trec în circulaţia sanguină, ajungînd, pe această cale, în diversele organe — ficat, splină, rinichi etc., unde se localizează. În ficat, se pare că ei găsesc cele mai bune condiţii de conservare şi multiplicare. Ei nu dispar de aici, în multe cazuri, nici după vindecarea completă a bolnavului, care rămîne, astfel, un purtător şi un eliminator de germeni şi deci un izvor periculos de infecţie. Germenii se elimină, prin bilă, în conţinutul intestinal şi, de aici, cu materiile fecale în mediul exterior, unde pot infecta alimentele şi mai ales apa. Eliminarea germenilor se mai face destul de frecvent şi prin urină, datorită, în special, leziunilor vezicale. Ficatul şi rinichii oamenilor care elimină germenii nu prezintă, în cele mai multe cazuri, leziuni.

Simptome. Pătrunderea germenilor în organism provoacă o serie de tulburări, care caracterizează clinic febra tifoidă, şi care apar după o perioadă de incubaţie de 6—14 zile sau chiar mai mult. Iniţial, simptomele sînt puţin caracteristice şi constau din dureri de cap, ameţeală, senzaţii de oboseală, insomnie, lipsă de poftă de mîncare, eventual hemoragii nazale ; temperatura se urcă progresiv, ca 7—8 zile de la apariţia primelor simptome ea să atingă 40—41°C şi să se menţină, cu mici oscilaţii, în platou, atît cît durează boala. O dată cu ridicarea temperaturii, starea bolnavului devine gravă ; el este într-o continuă stupoare, delirează, face mişcări involuntare. Tulburările din partea aparatului digestiv nu întîrzie să apară şi ele constau din diaree (materiile fecale sînt de culoare galbenă) şi dureri la presiunea cavităţii abdominale, localizate, în special, în fosa iliacă. Splina se măreşte şi devine palpabilă ; pe piele pot apărea pete roşii, care dispar la presiune. Această stare durează 15—20 de zile şi este urmată, în caz de vindecare, de scăderea temperaturii şi dispariţia simptomelor. Mortalitatea este ridicată şi moartea e datorită fie intoxicaţiei generale, fie hemoragiilor intestinale, fie perforării intestinale, fie miocarditei. În cursul infecţiei se pot produce complicaţii ca : flebite, endocardite, stomatite, parotidite, pneumonii, bronhopneumonii gangrenoase, meningite, polinevrite, colicistite, cistite etc.

Modificările anatomice sînt localizate, în special, pe intestinul subţire şi constau din ulcere situate pe marginea liberă a intestinului. Ganglionii mezenterici sînt tumefiaţi, splina este mărită. Leziunile intestinale se pare că sînt de origine hematogenă ; germenii, după ce au traversat prima oară mucoasa şi au ajuns în sînge, revin şi se localizează pe mucoasa intestinală, mai ales în plăcile lui Peyer şi foliculii limfatici. Leziunea intestinală ar fi de natură alergică, bacilii neproducîndu-le decît după sensibilizarea organismului.

Diagnosticul infecţiei se face prin examen clinic, asociat cu examenul bacteriologic şi serologic. Bacilii se pot izola, mai ales la începutul infecţiei, din sînge (numărul bacililor este de obicei de 1—7 pe ml de sînge). În materiile fecale, urină şi splină, germenii se găsesc în tot cursul infecţiei.

Diagnosticul structurii antigenice a tulpinilor se face prin seroaglutinare cu seruri specifice Vi, O şi H. În diagnosticul febrei tifoide reacţia de seroaglutinare Widal (1896) este de un real folos. Pentru executarea reacţiei se folosesc diverse suspensii antigenice — antigen O, antigen H şi eventual antigen Vi. În interpretarea rezultatelor trebuie să se ţină seamă de o serie de date care o pot falsifica. Astfel vaccinaţii cu T.A.B. pot conţine aglutinine în serul lor sanguin, deşi nu sînt bolnavi de febră tifoidă. La fel, în stările febrile de altă natură se poate produce o îmbogăţire a serului în aglutinine, ca o consecinţă a unor reacţii anamnestice. Zilişteanu şi colaboratorii (1956) socotesc totuşi că o reacţie cu antigen H şi mai ales O peste 1/500 corespunde unei infecţii tifoide. Aglutininele apar, de regulă, după primele 7 zile de la apariţia simptomelor, concentraţia lor se măreşte în cursul infecţiei, scade după vindecare, dar nu dispar complet din sînge decît tîrziu.

Profilaxia febrei tifoide se face prin vaccinare şi măsuri sanitare. Controlul apelor potabile, al alimentelor şi al laptelui duce la reducerea numărului de îmbolnăviri. Se urmăreşte de asemenea descoperirea purtătorilor şi sterilizarea lor prin mijloace specifice. Vaccinurile moarte — T.A.B. amestec de bacili tifici şi paratifici A şi B — se folosesc, pe o scară întinsă, în prevenirea infecţiei.

Tratament. Se aplică un tratament simptomatic, tonice generale şi cardiace, precum şi unul specific — antibiotice, cloramfenicolul, streptomicina, aureomicina etc. Nitrofuranul, introdus în terapia febrei tifoide de Balş şi Căruntu (1952), dă rezultate apreciabile. Cloramfenicolul este socotit totuşi, de majoritatea clinicienilor, ca avînd cele mai însemnate proprietăţi curative în febra tifoidă (Cahan şi col.).

Infecţiile paratifice

Infecţiile paratifice nu se deosebesc, clinic şi anatomopatologic, de febra tifoidă, deşi sînt provocate de germeni — *Salm. paratyphi A*, *Salm. paratyphi B* şi *Salm. paratyphi C* — care se deosebesc biochimic şi serologic de *Salm. typhosa*. În general, infecţiile paratifice evoluează benign şi dau un procent redus de mortalitate.

Febra paratifoidă A este endemică în regiunile tropicale şi subtropicale şi este absentă, în condiţii normale, în ţările din regiunile temperate; totuşi, în timpul războiului 1914—1918, s-au observat numeroase cazuri de infecţii cu paratificul A în Franţa şi alte ţări europene; după încetarea războiului, germenul a dispărut din zona temperată.

Febra paratifoidă B este mai răspîndită ca paratifoida A şi o găsim frecvent în ţările din zona temperată. În Germania, numărul oamenilor infectaţi cu paratificul B este puţin mai redus ca al celor infectaţi cu bacilul tific. Paratifoza B creează purtători permanenţi; aceştia constituie izvorul principal de infecţie pentru om. Animalele nu se infectează cu acest germen şi printre ele nu putem găsi decît foarte rar secretori permanenţi: alimentele de origine animală pot fi infectate de purtători umani şi constitui, astfel, originea unei epidemii. Animalele care au ingerat paratifici B îi elimină prin fecale, în mod pasiv, bacteriile negăsind, în organismul animal, condiţii favorabile multiplicării lor.

Mortalitatea produsă de paratifoza B este, în medie de 1—4%. Relele condiţii igienice şi medicale pot mări această cifră.

Febra paratifoidă C. În cursul şi la sfîrşitul războiului 1914—1918 s-au descris, în diferite ţări, epidemii de febră paratifoidă produse de un germen care a fost clasat, pe baza structurii sale antigenice, în grupa C, împreună cu *Salm. suipestifer* şi celelalte tipuri ale acestei grupe. Germenul este patogen numai pentru om, animalele fiind refractare. Infecţia evoluează, la om, în majoritatea cazurilor, ca o febră tifoidă benignă. Extinderea infecţiei pare a fi datorită relelor condiţii igienice şi de hrană care au urmat războiului 1914—1918. Cazuri rare se mai identifică şi astăzi.

Gastroenteritele salmonelice

Gastroenteritele salmonelice sau paratifice se deosebesc, etiologic, epidemiologic, clinic şi anatomo-patologic, de infecţiile tifice şi paratifice. Ele evoluează ca intoxicaţii alimentare de tip infecţios; agentul patogen se găseşte în alimente şi continuă să se multiplice şi în tubul digestiv, de unde invadează întregul organism; se izolează în timpul vieţii şi după moarte din materiile fecale şi eventual, din sînge şi organe. Intoxicaţiile alimentare produse de *Salmonella* se deosebesc deci de cele produse de stafilococi, colibacili, streptococi, bacili sporulaţi Gram pozitivi etc. În acestea din urmă, numite încă şi intoxicaţii alimentare de tip toxic, evoluţia este mai benignă, perioada de incubaţie mai scurtă, procentul de mortalitate este foarte redus, iar germenii sînt prezenţi în număr extrem de mare în alimentul consumat, dar ei nu se mai multiplică în organism, după consumarea alimentelor şi de regulă, ei nu se găsesc în fecale în cursul evoluţiei bolii.

Gastroenteritele salmonelice sînt produse de cele mai diverse tipuri. La noi în ţară, după cercetările făcute de Ciucă, Combiescu şi colaboratorii, s-au identificat, în acest fel de infecţii, şapte tipuri de *Salmonella* şi anume:

1. *Salm. typhi-murium* în 46,21%
2. *Salm. enteritidis* Gärtner în 10,9%
3. *Salm. paratyphi B* în 17,63%
4. *Salm. cholerae suis* (Kunzendorf) 12,60%
5. *Salm. bovis marbificans* 2,52%
6. *Salm. paratyphi A* 5,04%
7. Salmonele neindentificate 2,52%.

În Anglia, după o statistică din anii 1920—1929, 66% din epidemiile de gastroenterită sînt produse de tipul *Salm. typhi-murium*, 7% de tipul *Salm. enteritidis* Gärtner şi 25% de alte tipuri (*Thompsen, Newport, Suipestifer, Bovis morbificans, Derby, Dublin* şi *New-castle*). În Germania, din 174 de cazuri diagnosticate, 134 (75%) au fost provocate de *Salm. typhi-murium*, 18 (10%) de tipul *enteritidis*, 2 de tipul *suipestifer* şi 24 (14%) de tulpini cu caractere intermediare.

Mortalitatea, în gastroenteritele salmonelice, variază de la o izbucnire la alta. Ciucă și colaboratorii dau următoarele procente de mortalitate, în raport cu specia microbiană infectantă : *Salm. cholerae suis*, 26% ; *Salm. typhi-murium*, 0,27% ; *Salm. enteritidis* Gärtner, 1,30% ; *Salm. paratyphi* A și B 16%.

Evoluția și gravitatea infecției sînt condiționate de cantitatea germenilor ingerați, de toxicitatea acestor germeni și de rezistența organismului. Cu cît doza de germeni ingerată este mai mare, cu atît simptomele apar mai repede și toxiinfecția are o evoluție mai gravă. Tabloul clinic variază de la un bolnav la altul ; alături de forme abortive, de-abia perceptibile clinic, se găsesc forme grave, fulgerătoare, care produc moartea în cîteva ore.

Simptomele apar la 8—24 de ore după ingestia alimentelor infectate și constau din dureri abdominale vii, diaree profuză, rareori sanguinolentă sau mucoasă, febră, tremurături musculare, uscarea pielii și a mucoaselor. În toxiinfecțiile coleriforme boala se manifestă prin diaree apoasă, vomismente continue, hipotermie. Infecțiile cu paratificii A și B evoluează, de regulă, ca septicemii fără localizări, în timp ce celelalte salmonele dau localizări. Ciucă și colaboratorii semnalează că din 15 infecții provocate de *Salm. cholerae suis*, 4 s-au complicat cu icter, 1 cu un focar pneumonic și icter, 1 cu colicistită, 1 cu pleurită, 1 cu periostită, 1 cu icter și osteoartrită. În toate cazurile de infecție, produse de *Salm. cholerae suis*, hemoculturile au fost pozitive.

Modificările anatomice constau din congestii și hemoragii ale mucoasei stomacale și intestinale. Splina este uneori mărită, alteori normală ; rinichiul este inflamat, pielea și mucoasele uscate. Culturile de sînge și organe sînt pozitive.

Diagnostic. Examenul clinic este completat ,în vederea diagnosticului, cu cercetări bacteriologice și serologice. Hemoculturile pot fi pozitive în primele ore după debut. Germenul se mai poate izola, în primele zile de boală, din materii fecale, urină, materii vomitate. Aglutininele apar, de regulă, în sînge după 6 zile de la apariția simptomelor și ating titrul maxim după 11—15 zile. Titrul de 1/80 este socotit pozitiv (Gaspard și Alexenco, 1952). Aglutininele nu apar însă cu regularitate și, în consecință, o reacție negativă nu exclude infecția.

Oamenii care au suferit de o infecție salmonelică elimină germenii prin fecale. Zilișteanu a constatat, într-un focar, că în primele 4 zile după infecție coproculturile au fost pozitive 100%, din cazuri, în a 6-a zi la 72%, iar după 23 de zile în 20%. Maier și colaboratorii (1950) au constatat, într-o epidemie, că 60 de zile după izbucnirea infecției mai existau încă 25% purtători. Ștefănescu și colaboratorii (1953) semnalează un caz în care un om a rămas purtător timp de 16 ani.

Salmonele pot fi izolate și din alimentele care au provocat intoxicațiile.

Salmoneloze animale

Numeroase specii animale pot fi infectate cu specii din genul *Salmonella* ; la unele din ele, aceste infecții constituie entități morbide bine definite, la altele ele evoluează ca infecţii secundare, grefate pe alte stări patologice. Paratifosul purceilor, tifoza şi diareea albă a păsărilor, paratifosul viţeilor, avortul paratific la iepe şi oi, paratifoza şoarecilor şi şobolanilor etc. sînt considerate salmoneloze primare, iar invazia cu *Salm. suipestifer* a porcilor bolnavi de pestă porcină sau variolă, ca salmoneloze secundare. Dezvoltarea şi gravitatea salmonelozelor depind, într-o mare măsură, de condiţiile sanitare şi igienice în care se găsesc animalele. Cu cît aceste condiţii se depărtează mai mult de normal, cu atît infecţia este mai gravă şi tinde să ia un caracter epizootic. Paratifosul purceilor, considerat ca infecţie primară, este agravat de o alimentaţie deficientă şi de adăposturi necorespunzătoare. Diareea albă a puilor, care este tip de salmoneloză primară, evoluează mai benign cînd puii se găsesc în perfecte condiţii igienice şi sînt raţional hrăniţi. Prezenţa germenilor, mai ales dacă aceştia sînt în număr mic, nu este suficientă pentru a provoca infecţia ; o stare de receptivitate specială, provocată de crizele de aclimatizare, de un parazitism masiv al ficatului cu distome etc., condiţionează apariţia infecţiei. Profilaxia salmonelozelor trebuie să aibă în vedere atît eliminarea posibilităţilor de infecţie, deci a purtătorilor de germeni, cît şi, mai ales, ameliorarea condiţiilor sanitare şi igienice ale animalelor. În ceea ce priveşte purtătorii şi eliminatorii de germeni, ei au fost identificaţi la toate speciile animale — păsări sau mamifere. La bovine, de exemplu, Kondratiev (1955) găseşte că în unele ferme 65,7% dintre animale dădeau o reacţie de aglutinare pozitivă la titruri mai mari de 1%. Animale cu seroreacţii pozitive se găsesc într-un procent mai mare în efectivele care pasc pe regiuni mlăştinoase, umede, de şes, decît cele care se găsesc pe terenuri uscate, de deal. Porcinele sînt de asemenea purtătoare într-un procent foarte ridicat.

Salmonelozele bovinelor

(Salmonellosis enteritidis)

Paratifosul viţeilor, diareea sau septicemia viţeilor este o infecţie generală, produsă, în marea majoritate a cazurilor de *Salm. enteritidis* Gärtner şi numai la un număr redus de cazuri de *Salm. typhi-murium* sau alte tipuri.

Infecţia se grefează, de obicei, pe organisme prezentînd deficienţe organice. Apariţia ei este uşurată, pe lîngă aceasta, de însăşi structura organismului nou-născut. Peretele tubului gastrointestinal, în această perioadă, este într-adevăr, permeabil faţă de germeni şi toxine. Secreţiile glandelor digestive sînt reduse cantitativ şi calitativ : cheagul nu are suficientă presură, pancreasul nu secretă încă fermenţi amilolitici şi tripsină, iar intestinul este lipsit de mucozităţile care, la animalele adulte, împiedică pătrunderea germenului în circulaţia generală. La un asemenea organism, pătrunderea germenilor, în cantitate mare, în tubul digestiv, duce la instalarea infecţiei.

Diareea viţeilor este o infecţie de grajd (Vişinevski), care evoluează sub formă de enzootii de grajd şi nu trece, de regulă, de la un adăpost la altul. Ea este frecventă în ţările din nordul Europei, ca : Danemarca, Germania, Olanda, etc. Mortalitatea este ridicată. Ea poate atinge

4,33% (Flehmatov, 1950). Infecţia se întîlneşte la viţeii în vîrstă de 1—3 săptămîni şi poate fi de contact sau de origine alimentară. Aceasta din urmă apare de regulă atunci cînd se administrează laptele la 6—8 ore după mulgere, fără a se lua măsuri de distrugere a florei bacteriene. Germenii sînt introduşi în organism per os şi, din aparatul digestiv, trec în circulaţia limfatică şi sanguină. Simptomele sînt, de obicei de la început, foarte grave şi apar după o scurtă perioadă de incubaţie — de la cîteva ore la 2—3 zile. Ele constau din febră, 40—42°C, dispnee, puls slab, apatie totală, zbîrlirea părului şi uneori fenomene cerebrospinale. Moartea poate surveni în cîteva zile înainte de apariţia oricărei localizări. Cînd infecţia durează mai mult timp, 2 săptămîni, apar diverse localizări situate în tubul digestiv — diaree de multe ori sanguinolentă ; în pulmon — pneumonii şi pleurite — sau în articulaţii — artrite. Leziunea iniţială este situată în tubul digestiv şi ea atrage după sine celelalte localizări. Tulburările digestive — diaree — duc, în primul rînd, la o deshidratare a organismului şi, consecutiv, se produce miocardita. Tulburările funcţionale ale cordului atrag după ele dificultăţi circulatorii, care se manifestă, într-o mai mare măsură, la nivelul pulmonului. Dificultăţile circulatorii de la nivelul pulmonului se traduc prin fenomene de stază. În lichidele pulmonare transudate, ca o consecinţă a stazei, se fixează o floră microbiană variată, a cărei înmulţire duce la instalarea leziunilor pulmonare. Leziunile articulare sînt urmarea circulaţiei diverşilor germeni în organism. Germenii circulanţi se localizează în cavităţile articulare, care, în comparaţie cu alte cavităţi, posedă foarte puţini factori activi de apărare antimicrobiană.

Animalele care rezistă infecţiei se vindecă foarte greu şi vindecarea, în multe cazuri, nu este completă. În general, vieţii care au suferit de paratifoză se dezvoltă încet şi pot prezenta deformări osoase sau articulare.

La autopsia viţeilor morţi sau sacrificaţi se găsesc leziuni care oglindesc evoluţia clinică. În formele acute, septicemice, leziunile sînt de tip congestiv ; splina este mărită, consistentă, cu foliculii roşii sau de culoare galbenă-gri. Splina, în cazuri cu o evoluţie mai lungă, este cirotică, elastică şi numită, pentru acest motiv, splină de cauciuc. Rinichiul poate prezenta hemoragii punctiforme. Pulmonul şi pleurele sînt congestionate, inflamate ; ganglionii tracheo-bronhici sînt tumefiaţi şi congestionaţi. Mucoasa intestinului subţire şi cea a intestinului gros sînt puternic inflamate ; pot prezenta, în raport cu durata infecţiei, hemoragii punctiforme, ulcere sau procese de descuamare asemănătoare celor ce se găsesc pe intestinul gros în paratifosul purceilor. Ganglionii mediastinali sînt hipertrofiaţi. Articulaţiile, în care germenii s-au localizat, conţin un abundent lichid sinovial, cu flocoane de fibrină. Anatomo-patologic, infecţia se caracterizează prin formarea, în diverse organe ca : rinichi, splină, ficat, ganglioni limfatici, a unor noduli de mărimea unui bob de nisip şi de culoare galbenă-gri. Nodulii pot fi nespecifici şi de tip necrotic şi în acest caz sînt datoriţi acţiunii coagulante a toxinei asupra celulei hepatice sau sînt specifici, interlobulari şi de tip proliferativ, în acest caz ei rezultînd din multiplicarea celulelor sistemului reticuloendotelial, sub influenţa iritativă a toxinei.

Clinic şi anatomo-patologic infecţia este greu de diagnosticat ; nodulii miliari din organe par a ne da cea mai preţioasă indicaţie. Diagnosticul precis se face prin metodele bacteriologice și serologice. Germenul, în timpul vieții, se izolează frecvent din materiile fecale și mai rar din urină sau sînge. Aglutininele apar în sînge în a 2-a săptămînă a bolii, ating o concentrație maximă între a 5-a și a 7-a săptămînă și dispar, de regulă, după 2—3 luni.

Măsuri pentru a evita întinderea infecției. Se recomandă în primul rînd, ca fătările să se facă în boxe speciale și ca cea mai perfectă curățenie să fie păstrată în grajduri. Dezinfecția ocupă un loc principal în combaterea acestei maladii. Vițeii vor fi crescuți în grupe izolate, compuse din cel mult zece viței. Boxele cu viței vor fi separate una de alta prin boxe libere. Vițeii sănătoși vor fi separați de cei bolnavi de la apariția primelor simptome și ținuți, sub observație, 10 zile. Diagnosticul precoce al unei asemenea infecții face parte, la fel, din măsurile care asigură o mai rapidă și eficace stingere a focarului. De aceea, orice vițel mort va fi îndată cu atenție autopsiat. Se vor recolta organe, ombilic, splină, ficat, rinichi, pulmon, os nedeschis, care se vor trimite la laborator împreună cu o notă în care se vor descrie, în amănunt, simptomele clinice și modificările anatomice.

Măsuri specifice de prevenire și tratament. În efectivele indemne, în care boala apare însă cu regularitate în fiecare perioadă de fătări, se va proceda la vaccinarea fiecărui vițel, în trei reprize, procedîndu-se în felul următor:

prima vaccinare: 24 de ore după naștere (0,25 ml de vaccin preparat cu *Salm. enteritidis* plus 0,25 ml de vaccin anticolibacilar);

a doua vaccinare: 3 zile după prima; se repetă prima vaccinare;

a treia vaccinare: 3 zile după a doua (0,75 ml de vaccin preparat cu *Salm. enteritidis* plus 0,75 ml de vaccin anticolibacilar).

Animalele astfel tratate se imunizează activ. Starea de rezistență este completă 10 zile după ultima injecție.

Demidenko (1950) a obținut bune rezultate, în prevenirea diareii vițeilor, vaccinînd vacile-mamă în a 7-a lună de gestație, cu vaccin antisalmonelic. Autorul a practicat trei vaccinări la 2 săptămîni interval. Prima injecție se făcea cu 6—8 ml, a doua cu 10—12 ml, și a treia cu 13—15 ml de vaccin.

Kolomakin și Sarsenov (1955) recomandă atît vaccinarea vacilor înainte de fătare, cît și a vițeilor îndată după fătare.

În cazul cînd boala a apărut într-o crescătorie socotită indemnă, se va proceda la:

1. Izolarea vițeilor bolnavi și tratarea lor;
2. Vaccinarea ca mai sus a tuturor vițeilor sănătoși care sînt mai tineri de 6 luni.

Tratamentul vițeilor bolnavi se va face simptomatic și prin mijloace specifice.

Vișnevski (1950) recomandă să se folosească, pentru tratamentul vițeilor bolnavi, mijloace variate, cum sînt serul reticular citoxic al lui Bogomoletz, alcoolul de 33° administrat pe cale intravenoasă, vinul cald per os, neosalvarsanul, serul glucozat 20—40% intravenos, lizosima. Sulfamidele (0,15—0,20 g pe kg viu în prima zi, iar în ziua următoare se scade doza la 0,1—0,15 și în a treia zi la 0,06—0,1 g) se pot asocia, în scopul accentuării acţiunii lor terapeutice, cu serul specific, cu medicamente antidiareice şi tonice cardiace. Miklaşevski (1950) foloseşte, cu bune rezultate, transfuzia de sînge. El obţine, prin transfuzii cu sînge matern, 17 vindecări din 18 cazuri tratate; cu sînge eterogen vindecă 46 de viţei din 51 bolnavi; cu sînge sulfamidat, vindecările sînt de 100%. Flegmatov (1950), plecînd de la ipoteza că afecţiunile gastrointestinale se datoresc, printre altele, calităţii proaste a colostrului şi că lichidele fetale pot ridica această calitate grăbind involuţia uterină, administrează la vaci, în timpul fătării, 3 l de asemenea lichid, obţinînd rezultate satisfăcătoare. Într-o gospodărie de stat în care mortalitatea la viţei era de 26,3—43,3% se obţine o reducere a acestei mortalităţi la 3,1—8,7% în urma instituirii acestei metode de prevenţie.

Antibioticele active faţă de germenii Gram negativi — streptomicina, cloromicetina, aureomicina — pot fi folosite în tratamentul paratifozei viţeilor, ele dînd rezultate foarte bune (Subbotin, 1955).

Enterita bovinelor adulte. Infecţia salmonelică la animalele adulte îmbracă forme clinice numai în prezenţa unor importanţi factori ajutători. Febra aftoasă, piroplasmoza, distomatozele grave, oboseala, tulburările de nutriţie etc. înlesnesc izbucnirea infecţiei. De asemenea, animalele importate, în criză de aclimatizare, se îmbolnăvesc mai uşor ca cele autohtone. Infecţia apare, de obicei, la păşune, şi mai cu seamă în anii ploioşi.

Izvorul de infecţie îl constituie animalele purtătoare şi secretoare de germeni. Eliminarea se face, de regulă, prin materiile fecale, mai rar prin urină şi lapte. Se deosebesc trei categorii de excretori şi anume: ocazionali, trecători şi permanenţi. Secretorii ocazionali elimină germenii pe care i-au ingerat înainte ca aceştia să fi produs vreo leziune oarecare. Excretorii trecători şi permanenţi sînt constituiţi de acele animale la care germenul a produs o infecţie aparentă sau inaparentă şi la care seroaglutinarea este pozitivă. Un excretor este socotit permanent cînd germenul este găsit în materiile fecale la trei examene bacteriologice consecutive. Excretorii permanenţi sînt cei mai periculoşi din punct de vedere al răspîndirii bolii. Germenii, la aceste animale, au pătruns profund în organism şi îi putem izola, în caz de sacrificare, din ficat, bilă şi alte organe; splina este mult mărită şi poate conţine germeni. Serul sanguin al excretorilor permanenţi este bogat în aglutinine; el poate aglutina suspensia bacteriană în diluţie de 1/2 000—1/10 000 sau mai mult.

Legătura dintre paratifosul viţeilor şi enterita bovinelor adulte nu este încă lămurită; uneori se constată o evoluţie paralelă a acestor două infecţii, alteori acest paralelism este absent. Experimental, tulpinile izolate de la viţei nu îmbolnăvesc vitele adulte şi invers. Tulpinile izolate din cazurile de paratifos la viţei deşi sînt identice, în laborator, cu cele izolate de la bovinele adulte, este foarte probabil că aceste două feluri de culturi diferă din punct de vedere epidemiologic. În general, se constată că o salmonelă este cu atît mai periculoasă pentru o specie animală, cu cît este mai adaptată organismului acestei specii.

Infecţiile produse de *Salm. enteritidis* şi *Salm. typhi-murium*, la bovinele adulte, prezintă un tablou clinic variat. Uneori boala evoluează supraacut şi se aseamănă cu antraxul; animalul devine, dintr-o dată trist are mersul nesigur, ține capul în jos, părul este fără luciu și zbîrlit, urechile reci, coarnele calde, temperatura 41°C și, cu aceste simptome, el poate muri în cîteva ore. Alteori, boala durează mai mult timp și se manifestă, de regulă, prin diaree profunză și sanguinolentă, lacrimație, catar al căilor respiratorii anterioare. Animalul slăbește repede. Vacile pline pot avorta. Moartea survine după 1 săptămînă sau mai mult de boală. Formele ușoare sînt complet vindecabile; cele grave compromit pentru mult timp sănătatea animalului. Unele forme de boală nu produc diaree, ci numai o slăbire continuă a animalului, însoțită de simptome pulmonare și articulare.

Modificările anatomice sînt în raport cu forma clinică a bolii. În toate cazurile, predomină însă leziunile congestive, hemoragice sau necrotice ale mucoasei intestinului subțire. Ganglionii limfatici sînt infiltrați, hemoragici, splina este mult mărită, cu foliculii limfatici hipertrofiați, ficatul poate prezenta noduli necrotici. Germenii se izolează din organe, în special din ficat și, uneori, din musculatură.

Diagnosticul animalelor cu infecții aparente sau inaparente se face prin seroaglutinare și examenul bacteriologic al materiilor fecale. O seroaglutinare pozitivă la titrul de 1/80—1/100 corespunde unui animal infectat; serul unor animale infectate poate aglutina însă o suspensie bacteriană la diluția de 1/20 000 sau mai mult. Clinic, infecția salmonelică se poate confunda cu coccidioza, pasteureloza, antraxul, intoxicațiile cu ferigă etc.

Tratamentul infecției a fost încercat cu diverse substanțe antiseptice și, în special, cu creolină, dar rezultatele au fost negative. Vaccinurile nu dau nici ele rezultate. Profilaxia enteritei bovinelor adulte interesează, în special, inspecția alimentelor, carnea unor asemenea animale constituind principalul izvor de infecție pentru om. Asanarea unei crescătorii de bovine se face prin eliminarea și sacrificarea excretorilor permanenți; aceștia sînt descoperiți prin metode bacteriologice: examenul serologic și examenul materiilor fecale. Un examen bacteriologic pozitiv și un titru aglutinant ridicat indică o infecție activă. Izolarea sau eliminarea animalelor bolnave trebuie să fie urmate de o dezinfecție riguroasă a grajdurilor.

Salmonelozele porcilor

(Salmonellosis cholerae suis)

Paratifosul purceilor. Unii autori disting două infecții paratifice ale porcilor: una, numită *tifosul purceilor*, este întîlnită la purceii pînă la vîrsta de 3 luni și este produsă de *Salm. typhi-suis* (tipul *Glässer-Voldagsen*), a doua, numită *paratifosul porcilor*, este produsă de *Salm. suipestifer* var. *kunzendorf*, și este întîlnită la porcii mai mari de 3 luni. Nu s-ar putea spune în ce măsură această clasificare corespunde realității.

Tifosul, după autorii care susțin existența acestei entități morbide, apare, de obicei, la purceii în vîrstă de cîteva săptămîni; animalele infectate slăbesc repede; au pielea palidă, uneori acoperită cu cruste; părul este zbîrlit; prezintă diaree și tuse. Mortalitatea atinge 50—75%. Animalele care trec prin boală se vindecă foarte încet și se dezvoltă foarte rău. La autopsia animalelor moarte se constată leziuni ale mucoasei intestinale și, în special, ale intestinului gros; acesta poate prezenta fie o necroză exfoliantă uniformă, fie ulcere rotunde, înconjurate de un burelet şi care se deosebesc de cele întîlnite în pesta porcină prin aceea că nu sînt proeminente pe mucoasă şi nu au structura stratificată asemănătoare foilor din bulbul de ceapă. În infecţiile acute, mucoasa intestinală este inflamată, congestionată, putînd prezenta puncte hemoragice. Ganglionii mezenterici sînt hipertrofiaţi, palizi. Pulmonul poate prezenta o inflamaţie catarală sau focare cazeoase.

Paratifosul porcilor este întîlnit la animale în vîrstă de 3—6 luni şi are, de obicei, o evoluţie acută. Moartea survine în cîteva zile. Leziunile sînt de tip septicemic. Pielea este congestionată, roşie; splina hipertrofiată şi de culoare albastru-închis. Peteşii şi sufuziuni sanguine se pot întîlni pe diverse seroase (epicard), mucoase (mucoasa stomacală şi intestinală) şi în ţesutul cortical al rinichiului. Manninger a descris infecţii produse de *Salm. suipestifer* var. *kunzendorf* care se caracterizau prin leziuni hemoragice intense, asemănătoare celor întîlnite în formele supraacute de pestă porcină.

La noi în ţară, Derlogea, Suhaci şi Cărăbaşu (1942) au studiat, din toate punctele de vedere, cîteva epizootii de paratifos la purcei. Infecţia, după autori, apare, de cele mai multe ori, îndată după înţărcare şi mai rar înainte de înţărcare. Boala evoluează acut, majoritatea animalelor murind după 3—5 zile de la apariţia simptomelor şi mai rar după 9—11 zile. Animalele infectate sînt triste, temperatura lor poate atinge 40—41°C, nu mănîncă, au diaree şi slăbesc foarte repede. Materiile fecale sînt de culoare galbenă-verzuie şi pot prezenta strii de sînge. Mortalitatea este în medie, de 30%. La autopsia animalelor moarte, se constată necroza difuză (aspectul tărîţos) a mucoasei intestinului gros, hipertrofia splinei care prezintă, eventual, infarcte hemoragice; leziuni hemoragice se întîlnesc pe seroase, în rinichii şi în mucoasa intestinală. Pulmonii sînt, de cele mai multe ori, indemni de orice leziune. Ganglionii sînt măriţi şi mustoşi. În ficat se pot găsi noduli necrotici miliari. Kokuricev afirmă că leziunea hepatică este cea mai caracteristică infecţiei salmonelice şi ea constă din focare necrotice microscopice, hemoragii şi proliferări locale şi difuze ale celulelor din sistemul reticulo-endotelial. Asemenea leziuni nu se găsesc, după autor, în alte infecţii ca pesta, pasteureloza, influenţa şi pe baza lor se poate pune diagnosticul de salmoneloză.

Derlogea şi colaboratorii (1942) afirmă mai departe că purceii, la care boala a evoluat mult timp, pot prezenta o dermatită necrotică. Animalele trecute prin boală rămîn închircite. Din organele animalelor moarte, autorii au izolat, în mod constant, *Salm. suipestifer* var. *kunzendorf*.

Infecţia nu este întîlnită la purcei mai mari de 3 luni şi este socotită ca o boală de creştere; apariţia ei este înlesnită de condiţii de igienă şi hrană nesatisfăcătoare. Animalele adulte nu se îmbolnăvesc însă pot fi purtătoare şi eliminatoare de germeni. Derlogea şi colaboratorii (1942) au găsit într-o crescătorie, în care paratifosul a apărut înainte de înţărcare, o scroafă al cărui ser aglutina suspensiile de *Salm. suipestifer* la titru de 1/500—1/1 000. Eliminarea din crescătorie a animalelor cu seroaglutinări pozitive a dus la dispariţia paratifosului la purceii din fătările ulterioare.

Tratamentul purceilor bolnavi cu ser sau vaccin nu dă rezultate sau dă rezultate slabe. Preventiv, purceii din crescătoriile infectate pot fi imunizați prin culturi moarte. Vaccinarea preventivă se practică, înainte de înțărcare, la purceii în vîrstă de 4—6 săptămîni și constă din două inoculări, făcute la interval de 5—8 zile, respectiv cu 2 și 5 ml de suspensii de germeni inactivați prin formol.

Infecții secundare cu Salmonella la porci. Virusul pestei porcine, prin leziunile vasculare pe care le provoacă, înlesnește pătrunderea diverșilor germeni în organism.

Invazia cu *Salm. suipestifer* sau cu alte salmonele, a organismelor infectate cu virusul pestei, își are originea în intestin. O serie de cercetători au izolat, într-adevăr, *Salm. suipestifer* din conținutul intestinului gros. Cîrsteț (1952) în R.P.R. găsește, de exemplu, că porcii sănătoși conțin *Salmonella* grupa C în materiile fecale în proporție de 8,80%, iar porcii bolnavi de pestă în proporție de 15%. Clarenburg și colaboratorii (1949), examinînd, bacteriologic, materiile fecale și ganglionii mezenterici de la 503 porci sănătoși nu găsesc salmonele în conținutul intestinal, dar le izolează din ganglionii mezenterici de la 14 animale. Cele 14 tulpini izolate au aparținut tipurilor *Salm. typhi-muriun* (7 tulpini), *Salm. enteritidis* Dublin (4 tulpini), *Salm. enteritidis* Gärtner (1 tulpină), *Salm. newport* (1 tulpină) și *Salm. give* (1 tulpină). Butiaux și colaboratorii (1951) găsesc că ganglionii mezenterici de porc conțin salmonele în proporție de 4,08%. Bugeac și colaboratorii (1956) izolează *Salm. suipestifer* var. *kunzendorf* din fecale de la porci sănătoși: 11 cazuri (4,7%) pozitive din 233 examinate.

Tipurile *Gärtner* sau *typhi-murium* pot invada, în aceleași condiții, ca și tipul *suipestifer,* organismele debilitate prin acțiunea virusului pestei sau altor virusuri. Popovici de exemplu, a izolat tipul *Gärtner* de la purceii morți cu leziuni de variolă.

Salmonelozele aviare

S-au descris, la păsări, două salmoneloze importante și cu caracter epizootic. Una din ele, cunoscută sub numele de tifoza aviară, este o infecție septicemică a păsărilor adulte și este produsă de *Salm. gallinarum;* a doua, numită diareea albă, este produsă de *Salm. pullorum* și întîlnită frecvent la puii mici și rar la păsările adulte. Diferențele între agenții etiologici ai celor două infecții sînt nule din punct de vedere serologic și de o redusă importanță din punct de vedere biochimic. În ceea ce privește diferențele de ordin biochimic, Cernăianu afirmă că, în mod constant, tulpinile de *Salm. gallinarum* îngălbenesc mediul lui Gassner, atacă dulcita și virează, în albastru, zerul turnesolat, în timp ce tulpinile de *Salm. pullorum* nu schimbă niciodată culoarea mediului lui Gassner, nu atacă dulcita și virează în roșu zerul turnesolat. În același sens se mai constată că tulpinile de *Salm. gallinarum* atacă, de obicei, maltoza, și produce hidrogen sulfurat în timp ce cele de *Salm. pullorum,* de regulă, nu atacă acest hidrocarbonat și nu produc hidrogen sulfurat. De asemenea, comportarea față de xiloză și ramnoză poate da unele indicații cu privire la tipul tulpinii

(Lucas şi col., 1951). Valoarea testelor biochimice este destul de relativă, din cauza instabilităţii echipamentului enzimatic al tulpinilor (vezi Popovici şi Bica Popii, 1950, Virat şi col., 1955 etc.).

Unele diferenţe au mai fost remarcate şi în modul de dezvoltare a tulpinilor celor două specii pe agar. Tulpinile speciei *Salm. gallinarum* produc colonii mari asemănătoare coloniilor de colibacili, în timp ce tulpinile speciei *Salm. pullorum* produc colonii mici, rotunde, bombate cu suprafaţa mucoasă, umedă. Kujumgiev (1937) afirmă că tripaflavina diluată 1/1 000 în apă fiziologică, aglutinează tulpinile speciei *Salm. pullorum,* dar nu pe cele ale speciei *Salm. gallinarum.* Patogenitatea pentru animalele de experienţă ale celor două specii este aproape aceeaşi. Intr-adevăr, Cernăianu şi Popovici, examinînd, paralel, patogenitatea celor două variante, au constatat că ambele omoară, în 5—7 zile, iepurii inoculaţi pe cale subcutană, peritoneală sau intravenoasă. Cobaiul nu este sensibil decît pe cale peritoneală. Şoarecele este omorît pe cale subcutană, cu doze variind de la 0,1 la 1 ml. Cernăianu (1926) afirmă că tulpinile de *Salm. gallinarum* sînt patogene pentru şoarece, pe care îl omoară cu regularitate în 24 de ore cînd este inoculat pe cale subcutană, cu 0,1 ml de cultură în bulion de 24 ore. Şobolanul, cîinele şi pisica sînt rezistenţi. Tulpinile de *Salm. gallinarum* sînt mai virulente pentru găini ca cele ale speciei *Salm. pullorum.* Primele omoară găinile, inoculate pe cale intravenoasă, în 1—7 zile; tulpinile, izolate de la pui cu diaree albă, inoculate pe aceeaşi cale, în doză de 1 ml de cultură în bulion de 24 de ore, produc o infecţie inaparentă, însoţită de apariţia aglutininelor în sînge (titru 1/800—1/1 000). O parte din aceste păsări se

Tabelul 14

Caracterele distinctive dintre Salm. gallinarum şi Salm. pullorum

Specia	Se izolează, de regulă, de la	Aspectul culturii pe agar	Mediul Gassner	Zerul turnesolat	Maltoza	Dulcita	Producţia de SH_2	Aglutinabilitatea prin sol. 1/1 000 tripaflavină	Patogenitatea pentru găini adulte
Salm. gallinarum	Găinile adulte	Colonii mari, plate	Îl îngălbeneşte	Îl înălbăstreşte	+	+	+	— (?)	+
Salm. pullorum	Puii sub 5 săptămîni	Colonii mici, bombate, mucoase	Nu-i modifică culoarea	Îl înroşeşte	—	—	—	+ (?)	—

pot vindeca definitiv şi aglutininele dispar din sînge; la altele se produce o ovarită cronică şi aglutininele, în acest caz, persistă în serul lor sanguin.

Diferenţele de ordin cultural, biochimic şi patogenic, dintre germeni izolaţi de la găinile cu tifoză şi puii cu diaree albă, nu ar justifica crearea a două specii diferite din agenţii cauzali ai celor două infecţii. Cel mult unul din ei poate fi considerat ca o variantă a celuilalt şi unii autori consideră *Salm. pullorum* ca o variantă a speciei *Salm. gallinarum*.

Goret şi colaboratorii (1956), în urma unor cercetări amănunţite, socotesc că distincţia celor doi germeni în două specii aparte nu se sprijină pe criterii obiective şi propun ca toate tulpinile imobile de *Salmonella* izolate de la pui sau găini adulte să constituie o singură specie, care să fie numită *Salm. gallinarum-pullorum*. Termenul de *Salm. avium* ar fi poate mai comod. Cu toate aceste obiecţii juste, infecţiile spontane produse de aceste două variante, aşa de apropiate una de alta, continuă încă a fi studiate separat, în majoritatea tratatelor, deoarece epizootologic ele se comportă diferit. Astfel, cele două boli nu evoluează paralel: sînt regiuni în care se constată frecvent epizootii de tifoză, dar nu de diaree albă şi invers. Modul de transmitere a tifozei este diferit, de obicei, de al diareii albe; aceasta din urmă se transmite, aproape exclusiv, prin ouă, în timp ce prima, aproape exclusiv, prin contact. Măsurile de profilaxie nu sînt aceleaşi pentru cele două boli. Pentru aceste motive, mai mult de ordin practic, decît ştiinţific, este bine ca diareea albă şi tifoza aviară să fie socotite ca două entităţi morbide distincte.

Tifoza aviară

(Typhus avium)

Tifoza aviară a fost descoperită şi descrisă în Anglia, în 1889, de Klein, care îi dă numele de enterită infecţioasă; autorul izolează agentul etiologic căruia îi dă numele de *B. gallinarum*. In ţara noastră, ea a fost identificată, pentru prima dată, în 1926, de Cernăianu.

Spontan, *Salm. gallinarum* infectează frecvent găina şi mai rar curca, bibilica şi fazanul; palmipedele şi porumbelul nu se infectează spontan deşi sînt sensibili faţă de infecţiile experimentale. Germenul pare că nu a fost izolat niciodată de la om.

Bacteriile ajung, de regulă, în organism pe cale bucală; din tubul digestiv, ele trec în circulaţia generală. Boala poate evolua supraacut, acut sau cronic. Simptomele apar după o perioadă de incubaţie variind de la 3 la 20 de zile. In forma supraacută, moartea survine în cîteva ore de la apariţia primelor simptome şi sub această formă boala poate fi confundată cu holera aviară. Forma acută durează 2—5 zile şi este cea mai frecventă. Pasărea bolnavă este tristă, somnoroasă; temperatura anală atinge 43—43,5°C; penele sînt zbîrlite, creasta şi bărbiile palide, icterice; diareea se observă destul de frecvent; materiile fecale, în acest caz, sînt de culoare gri-verzuie sau galbenă ca sulful (Cernăianu, 1926). Această stare se poate prelungi pînă la 10—14 zile, boala devenind cronică. Mortalitatea este în medie de 50%; Cernăianu a observat, într-o crescătorie, o mortalitate de 70,4% pentru găini şi de 44,4% pentru curci.

La autopsia găinilor moarte în urma unei infecții supraacute, se constată leziuni de tip septicemic, congestii și hemoragii punctiforme situate pe mucoasa intestinală și pe seroase. În formele acute și cronice, leziunile sînt de tip necrotic. Ficatul este mult mărit și în contact cu aerul culoarea sa devine, din cauza retenției biliare, asemănătoare bronzului; el poate conține noduli necrotici caracteristici tuturor infecțiilor paratifice. Splina este mare, cu foliculii măriți și de culoare galbenă-gri. Miocardul este atrofiat și poate prezenta, în masa sa, noduli gri-gălbui, care pot atinge mărimea unui bob de mazăre; în cavitatea pericardică se găsește un exudat fibrinos. Pulmonul este inflamat. În rinichi se pot găsi noduli necrotici. Pe mucoasa intestinală, în special pe cea a cecului, pot fi prezente ulcere acoperite de depozite necrotice sau hemoragice. Foliculii ovarieni sînt aproape totdeauna normali.

Diagnostic. Clinic și anatomo-patologic boala poate fi confundată, în forma sa supraacută, cu holera, iar în forma sa cronică, cu spirochetoza. Precizarea diagnosticului se face prin examen de laborator. Germenii sînt de obicei rari în organe și examenul microscopic direct poate fi negativ; însămînțările din splină, ficat, măduva osoasă sînt însă, în caz de tifoză aviară, regulat pozitive. Tulpinile de *Salmonella* izolate sînt diferențiate cultural, biochimic și serologic, în special de colibacili și pasteurele.

Păsările infectate și vindecate rămîn, în marea lor majoritate, purtătoare și eliminatoare de germeni, care, așa cum a arătat *Cernăianu,* se cantonează, de cele mai multe ori, în vezica biliară, de unde se elimină în intestin și apoi, cu materiile fecale, în mediul exterior. Eliminatorii cronici constituie izvorul principal de infecție pentru păsările sănătoase. Ei se identifică, în mod obișnuit, prin probe de seroaglutinare — proba rapidă sau lentă.

Profilaxia tifozei aviare comportă descoperirea și eliminarea purtătorilor din crescătorie și vaccinarea păsărilor care dau seroaglutinări negative. Seroaglutinarea rapidă constituie metoda obișnuită de identificare a purtătorilor. Depistarea purtătorilor s-ar putea face, după Cernăianu (1926), și prin probe alergice. Drept alergen autorul folosește o suspensie dintr-o cultură pe agar, spălată cu 10 ml de apă fiziologică; suspensia se încălzește 1 oră la 60°C și se inoculează în dermul bărbiei, în doză de 0,1—0,2 ml. La păsările infectate se produce, în urma inoculării antigenului, o inflamație care atinge dimensiunile maxime după 36—48 de ore. Reacția este, după Cernăianu, specifică și suspensiile de pasteurela sau stafilococ nu produc, în condiții similare, tumefacția bărbiei la păsările infectate experimental sau natural cu *Salm. gallinarum.*

Eliminarea purtătorilor este urmată de dezinfecția radicală a localului.

Vaccinarea păsărilor sănătoase se face cu culturi omorîte.

Tratament. Păsările bolnave se pot trata. Unele sulfamide (sulfamerazina), administrate în concentrație de 0,4%, în apă de băut, ar opri, după unii clinicieni, mortalitatea în efectivele infectate. 2 zile după încetarea tratamentului cazurile de boală însă reapar. Probabil că streptomicina, cloromicetina și alte antibiotice active față de bacteriile Gram negative dau rezultate pozitive și mai bune ca sulfamidele.

Diareea albă sau diareea pulorică
(Diarrhoea pullorum)

Diareea albă sau diareea pulorică este o boală a puilor de găină şi mult mai rar a puilor de curcă, fazan sau raţă ; la alte specii de păsări boala nu este întîlnită decît excepţional. De asemenea, germenul nu este patogen şi nu se izolează de la mamifere decît extrem de rar. Jones şi Henderson (1953) l-au găsit, de exemplu, la un iepure de Chinchila. Infecţia pulorică la puii de găină şi agentul ei etiologic au fost descoperite de Rettger, în 1889, în Statele Unite ale Americii. Boala s-a întins, după această dată, în Europa, o dată cu introducerea sistemelor artificiale de clocire a ouălor şi de creştere a puilor. Ea a fost găsită în Germania în 1910, în Ungaria în 1922, în Anglia în 1924, în Romînia în 1929 (Cernăianu şi Popovici).

Diareea albă este o boală a puilor mici. Agentul bolii — *Salm. pullorum* şi numai excepţional *Salm. gallinarum* — este transmis în primul rînd, prin ou de către găinile infectate. Cocoşii nu transmit infecţia. Puii care se dezvoltă din ouă infectate pot muri înainte de ecloziune sau în primele zile de la ieşirea din ou. Infecţia, la aceştia din urmă, se manifestă prin diaree (materiile fecale sînt întîi galbene, apoi verzi şi, în cele din urmă albicioase, cretoase), tristeţe, lipsa poftei de mîncare, slăbiciune extremă, somnolenţă, aripile sînt lăsate în jos, ochii sînt lipiţi, puful din jurul anusului aglutinat de materiile fecale, care-l pot obstrua. Germenii se elimină masiv prin materiile fecale şi puii ieşiţi din ouă sănătoase, dar convieţuind cu pui bolnavi proveniţi din ouă contaminate, se infectează ciupind aceste materii, care se găsesc fie în jurul anusului puilor bolnavi, fie în clocitoare sau în crescătorie, fie pe jos în amestec cu alimentele sau apa. Boala, la puii ieşiţi din ouă sănătoase, dar care se găsesc împreună cu puii bolnavi, apare după o incubaţie de cîteva zile şi ea are aceeaşi evoluţie ca şi la puii infectaţi în timpul vieţii embrionare. Transmiterea infecţiei, după ecloziune, de la puii bolnavi, ieşiţi din ouă infectate, la puii ieşiţi din ouă sănătoase, este condiţionată de factorii de alimentaţie şi igienă. Ea se face în mare proporţie cînd puii sînt aglomeraţi şi ţinuţi în condiţii igienice nesatisfăcătoare (Stoenescu, 1956) şi într-o proporţie mai redusă cînd sînt respectate măsurile de igienă şi alimentaţie.

Prezenţa ouălor infectate într-un incubator se manifestă prin perturbaţii, care se observă chiar în perioada incubaţiei ouălor respective. Astfel, se semnalează o inversiune a raportului numeric dintre puii morţi la primul şi la al doilea miraj ; într-adevăr, în cazul ouălor neinfectate acest raport este de 3/1 sau 2/1, în timp ce în cazul ouălor infectate el devine 1/2 sau 1/4 (Stoenescu, 1956). În loc, deci, ca pe măsură ce embrionii cresc vitalitatea lor să crească, ea scade, datorită infecţiei cu *Salm. pullorum*. Aceste perturbaţii fac, ca în general, procentul de ecloziune, în cazul ouălor provenind din efective contaminate, să fie redus, 40—50%.

Mortalitatea la puii eclozaţi este în general, foarte ridicată şi poate atinge uneori cifra de 100%. Boala este cu atît mai gravă şi mortalitatea cu atît mai mare, cu cît infecţia se face mai repede după ecloziune, căci cu cît puii înaintează în vîrstă, cu atît rezistenţa lor creşte şi deci procentul de mortalitate se reduce; în general, mortalitatea scade de la o săptămînă la alta, pentru a înceta complet cînd puii împlinesc 4—6 săptămîni. Curba mortalităţii, în enzootiile cu evoluţie tipică, prezintă un vîrf situat la 4—5 zile după ecloziune, aşa cum se vede în figura 23.

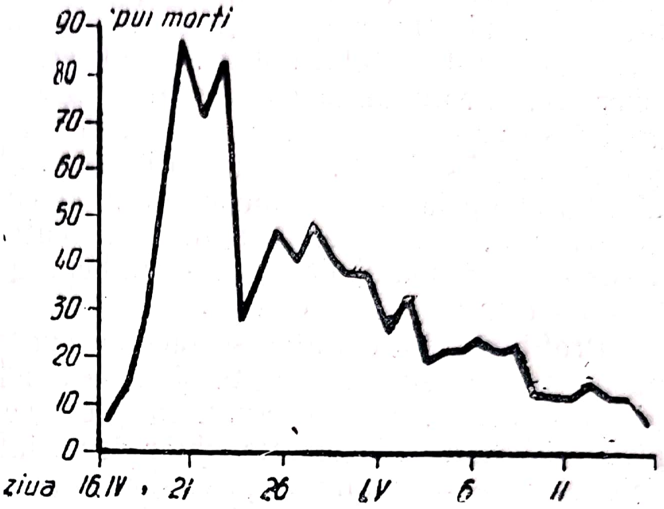


Fig. 23 — Curba mortalităţii într-o enzootie de puloroză cu evoluţie tipică (după Stoenescu)

Sub influenţa diferiţilor factori de mediu se pot produce devieri de la acest tip de evoluţie, aşa cum a arătat, printre alţii, şi Stoenescu (1956).

La puii morţi înainte de ecloziune se constată o necrobioză a gălbenuşului şi o degenerare grasă a ficatului. La cei morţi, în primele zile după ecloziune, gălbenuşul, care normal se resoarbe în primele 48 de ore, este complet neresorbit şi de culoare galbenă-brună. sau verzuie. Puii morţi prezintă o emaciere a musculaturii şi anemie. Leziuni nodulare de tip paratific se găsesc în miocard, pulmon, ficat pipotă şi rinichi, la puii la care boala a avut o evoluţie prelungită. Ficatul este mărit, friabil, cu zone de congestie şi degenerare. Vezica biliară dilatată. Stomacul şi intestinele sînt goale. Mucoasa intestinală este inflamată, congestionată, infiltrată. Cecul şi cloaca sînt dilatate şi conţin materii fecale rău mirositoare, de culoare albă. Leziunile, în special cele nodulare, sînt cu atît mai accentuate cu cît boala a durat mai mult timp. Germenii se găsesc în toate organele şi se pot izola, în cultură pură, din creier, măduva oaselor, splină, etc. Puii care au rezistat infecţiei, se dezvoltă de obicei mai încet; ei sînt, în marea lor majoritate, purtători de germeni. Aceştia sînt localizaţi, de obicei, în ovar, unde produc leziuni, care nu împiedică însă funcţionarea organului. Puicile infectate, ajunse la maturitate, ouă normal. Ouăle sînt uneori deformate, acoperite cu strii de sînge, cu coaja prea subţire sau chiar lipsite de coajă; numărul lor este mai redus ca la găinile normale. Într-un procent, care variază de la 10 la 90%, aceste ouă pot conţine germenul diareii albe. Germenii se pot găsi şi pe coaja ouălor provenite de la găini infectate, ceea ce constituie un factor de difuziune a bolii în clocitoare. După cercetările făcute de Stoenescu şi Ciomîrtan (1953) germenii de pe ouă nu pot pătrunde în ouă sănătoase, dar ei pot infecta puiul îndată după ecloziune. Cocoşii, provenind din ouă infectate, dau un procent redus de reacţii pozitive de aglutinare cu *Salm. pullorum* (3—10%).

Păsările adulte, infectate cronic cu *Salm. pullorum* dau un procent ridicat de mortalitate, care poate fi datorit atît infecţiilor intercurente, cît şi acţiunii patogene a germenului însuşi. Moartea poate fi uneori datorită tulburărilor consecutive localizării germenului în ovar şi leziunilor cronice pe care le-a provocat. Foliculii ovarieni ai păsărilor cu puloroză cronică nu sînt rotunzi, sferici, lucioşi, ci turtiţi, colţuroşi şi lipsiţi de luciul caracteristic foliculului normal. Nu rareori aceşti foliculi deformaţi se desprind şi cad în cavitatea peritoneală, producînd o peritonită. Germenii pot provoca leziuni pe oviduct; aceste leziuni pot împiedica eliminarea normală a ouălor. Cernăianu a găsit şase ouă acumulate într-un asemenea oviduct. Oviductul lezat secretă, uneori, cantităţi mari de albuş, care constituie concremente rotunde sau alungite şi care pot obstrua acest canal. Infecţia cronică se poate transforma, uneori, în acută, germenii trecînd, din organul în care sînt localizaţi, în circulaţia generală, producînd o septicemie mortală. La autopsia unei asemenea găini se constată, pe lîngă leziunile cronice ale ovarului, o tumefiere a splinei şi ficatului. Se pot găsi de asemenea în aceste organe noduli de culoare galbenă-gri. Însămînţările din sînge, măduva oaselor etc. sînt pozitive.

Profilaxia diareei albe se face cu succes, prin măsuri sanitare. Aceste măsuri trebuie să fie însoţite şi de o ameliorare a condiţiilor generale de igienă şi hrană. S-a observat, în acest sens, că acolo unde condiţiile de igienă şi hrană sînt perfecte, chiar dacă, întîmplător, datorită imperfecţiilor metodelor de depistare a păsărilor infectate, printre ouăle puse la clocit se găseau unele infectate, pierderile au fost mult mai reduse ca în crescătoriile rău îngrijite. Ca măsuri generale se recomandă curăţenie perfectă, dezinfecţia suprafeţei ouălor înainte de a le pune la clocit, dezinfecţia clocitorilor, eliminarea ouălor în care puii au murit, eliminarea puilor bolnavi etc. Dezinfecţia clocitorilor se poate face chiar în cursul incubaţiei. În acest sens Mauch şi Stoenescu (1953) au arătat că adăugînd 50 ml de formol comercial peste 35 g de permanganat de potasiu se asigură distrugerea salmonelelor dintr-un metru cub de aer, fără a influenţa procesul de incubaţie. Această metodă se foloseşte pentru dezinfecţia incubatoarelor de volum în plină funcţiune.

Eliminarea dintr-o crescătorie a găinilor cu infecţii cronice constituie mijlocul principal de combatere a diareei albe. Depistarea acestor păsări se face prin metode serologice. S-a folosit, încă din 1913, în acest scop, metoda de aglutinare lentă, apoi aglutinare rapidă pe lamă cu ser sau cu sînge. Reacţia rapidă cu sînge se face chiar în crescătorie folosind ca antigen o suspensie de germeni din culturi de 24 de ore pe agar. Germenii se diluează în proporţie de 5 g bacili, greutate umedă, pentru 100 ml de lichid. Lichidul de diluţie conţine 4% clorură de sodiu, 3% citrat de sodiu şi 0,4% formol. Depistarea şi eliminarea păsărilor serologic pozitive duc sigur la asanarea unei crescătorii, numai în cazul cînd procentul de păsări infectate nu depăşeşte 10%. Cînd această cifră este depăşită, rezultatele nu mai sînt sigure. Stoenescu (1956) afirmă că asemenea efective nu au putut fi asanate nici prin şase controale serologice, urmate de eliminarea păsărilor cu reacţii pozitive. Este necesar un control serologic lunar în perioada de ouat intens, pentru a identifica şi elimina cît mai repede din crescătorie păsările infectate.

Tratamentul diareii albe a puilor a fost încercat de diverşi autori: rezultatele au fost negative. Bacteriofagul specific s-a arătat ineficace în mîinile unor cercetători. Cusasvili (1950) afirmă însă că a obținut cu bacteriofag rezultate mai mult decît satisfăcătoare; astfel, procentul de pui vindecați a fost de 7,34% în lotul netratat și de 96,12% în lotul puilor la care s-a administrat bacteriofag specific. Puii hrăniți cu lapte acru se pare că rezistă bine infecției. Sulfadiazina și sulfamerazina reduc mortalitatea puilor în infecțiile cu *Salmonella*. Produsul terapeutic se amestecă cu hrana în proporție de 0,50%.

Alte salmoneloze ale păsărilor

În afară de *Salm. gallinarum* și *Salm. pullorum*, alte specii din genul *Salmonella* pot infecta păsările. Salmoneloze s-au descris la puii de rață (produse de *Salm. anatum*, *Salm. enteritidis* Gärtner, Cernăianu și Popovici, 1942, sau *Salm. suipestifer)*, la puii de găină (produsă de *Salm. typhi-murium*, Wynohradnyk, *Salm. suipestifer* var. *kunzendorf* (Cernăianu, 1931), la porumbei produsă de *Salm. typhi-murium*, (Cernăianu 1934) etc. Puii bolnavi sînt triști, au diaree și mor, în comă, prezentînd deseori leziuni necrotice, nodulare în pulmon. Germenul pare că nu se transmite prin ou. *Salm. typhi-murium, Salm. enteritidis* Gärtner și *Salm. suipestifer* infectează păsările tinere sau adulte. Aceste infecții sînt rare, însă prezintă importanță prin aceea că sînt produse de germeni patogeni pentru om. Consumul cărnii sau ouălor infectate cu asemenea germeni poate produce intoxicații umane grave (Axente, 1952).

Infecțiile cu *Salm. typhi-murium* pot avea un caracter epizootic la porumbei tineri și la canari. La porumbeii mai mici de 15—20 de zile, Cernăianu a constatat o mortalitate pînă la 61%. Animalele care rezistă rămîn purtătoare, se dezvoltă mai încet și, la vîrsta adultă, prezintă adeseori, diaree; ele transmit, probabil direct, nu prin ou, germenii la puii lor, permanentizînd astfel infecția și făcînd imposibilă creșterea. Eliminarea păsărilor găsite infectate prin examene serologice precum și vaccinarea celor cu reacții negative, pot duce la asanarea infecției într-o crescătorie (Cernea, 1934). O serie de cercetători, printre care Prokofieva și Doroșko (1953), au arătat că în paratifoza bobocilor de rață sau gîscă, a puilor de curcă și porumbeilor se obțin rezultate bune prin folosirea serului sau a serului și vaccinului. Serul antiparatific, în doză de 0,5 ml, protejează animalele în proporție de 80—90%. În efectivele mult infectate, autorii folosesc serovaccinarea păsărilor sănătoase. Acestea sînt injectate întîi cu ser și 5—6 zile mai tîrziu, cu vaccin. Păsările bolnave se tratează cu ser, obținîndu-se numeroase vindecări.

Suhaci (1935), într-o epizootie la canari produsă de *Salm. typhimurium*, obține rezultate bune cu vaccin și mai bune asociind serul cu vaccinul (0,4 ml de ser și 0,2 ml de vaccin).

Salmonelozele cailor
(Salmonellosis abortus equi)

Avortul contagios. Avortul iepelor este destul de frecvent și cauzele lui sînt multiple; unele din aceste cauze sînt de natură infecțioasă, altele de natură alimentară (avitaminoze, deficiențe minerale, alimente toxice), traumatică etc. Pop și Marinov (1944), examinînd 347 de cazuri de avort la iepe, au găsit că 51,30% sînt de natură infecțioasă, iar 48,70% au alte cauze neinfecțioase. Diverse specii bacteriene ca stafilococi, colibacili, *Corynebacterium pyogenes, Shigella equirulis* etc., pot produce avorturi sporadice; unele boli generale ca gurma, febra tifoidă, anemia infecțioasă, vărsatul etc. pot avea, drept consecință, avortul. Avorturi cu caracter contagios sînt, de regulă, provocate la iepe fie de *Salm. abortus equi*, fie de un virus filtrabil. Din 347 de avorturi la iepe, observate de Pop și Marinov, în Romînia, 65 (18,73%) au fost cauzate de *Salm. abortus equi*, 37 (10,66%) de *Str. abortus equi* și 58 (16,71%) de virusul filtrabil, restul avînd alte cauze.

Avortul salmonelic al iepelor este cunoscut încă de la sfîrșitul secolului al XVIII-lea. Agentul etiologic a fost izolat de Smith și Kilborn, în America, în 1893, și apropiat de autori de *Salm. suipestifer.* Boala a fost identificată apoi și în diverse țări europene.

Infecția iepelor se face, de cele mai multe ori, pe cale *digestivă* și numai rareori pe cale *genitală,* prin actul sexual. *Experimental,* culturile de *Salm. abortus equi,* introduse în vagin, administrate per os sau inoculate pe cale intravenoasă, la iepe gestante, pot provoca uneori avort. Rezultatele nu sînt însă totdeauna pozitive și nu se poate preciza întrucît avortul este datorit acțiunii specifice a germenului; se semnalează, într-adevăr, că și alte bacterii care nu produc spontan avort la iepe pot provoca un asemena proces cînd sînt inoculate pe cale intravenoasă. Pe de altă parte, culturile de *Salm. abortus equi,* inoculate pe cale intravenoasă, la vaci pline provoacă avort, germenii izolîndu-se din organele fetusului și din învelitori. De asemenea animalele de experiență pline — cobai, iepuri, șoareci — pot uneori avorta, în urma administrării per os sau inoculării parenteral a unor culturi de *Salm. abortus equi.*

Perioada de incubație, în infecția salmonelică abortigenă, este de 2—12 săptămîni. Fetușii sînt eliminați la diferite vîrste și nu se observă o sensibilitate particulară a fetușilor de anumite vîrste. Expulzarea este precedată, uneori, de tulburări clinice ca tumefacția vulvei, scursori vaginale albe mucoase, febră, lipsă de poftă de mîncare, colici etc., alteori ea se face fără nici un simptom prevestitor și dacă embrionul este mic și expulzarea se face la pășune, avortul poate trece neobservat iar iapa socotită sterilă. Fetusul este eliminat o dată cu învelitorile.

Leziunile fetusului și învelitorilor sînt variabile și prezența lor inconstantă. Se observă, adesea, necroze ale vilozităților coriale, edeme gelatinoase în țesutul subcortical și în jurul vaselor alanto-coriale (Pop și Marinov). La fetuși se pot constata edeme sanguinolente în țesutul conjunctiv subcutan, lichide sanguinolente în cavitatea toracică și peritoneală, hemoragii subseroase și inflamația mucoasei stomacale și intestinale. Noduli de tip paratific se pot găsi în marile organe și mai ales în ficat. Cordonul ombilical poate fi îngroșat și inflamat.

Agentul cauzal se găsește în toate organele fetusului și, mai ales, în conținutul stomacal și învelitori.

Diagnosticul infecției se face, fie prin examenul bacteriologic al avortonilor, fie prin examenul serologic al iepelor. Izolarea salmonelei din organele fetusului sau din învelitori nu prezintă nici o dificultate. Determinarea genului şi tipului culturii izolate se face prin mijloacele biochimice şi serologice obişnuite; germenul este patogen, per os, pentru şoarece. Iepele infectate conţin în serul lor sanguin anticorpi fixatori şi, în special, aglutinanţi. Titrul aglutinant al serului sanguin, provenind de la o iapă infectată, în general, este ridicat: de 1/1 000—1/10 000; o aglutinare la un titru mai mic ca 1/600 nu poate fi considerată ca reacţie pozitivă.

Profilaxia avortului salmonelic se face prin măsuri generale de igienă şi prin vaccinări. Fetuşii avortaţi, precum şi învelitorile trebuie distruse, deoarece conţin un mare număr de germeni, iar locul unde s-a produs avortul, dezinfectat. Iepele care au avortat nu pot fi date la armăsar înainte de 3 luni şi înainte ca orice secreţie vaginală să fi încetat. Un examen bacteriologic al secreţiei vaginale, în cazurile suspecte, este de recomandat; dacă examenul este negativ, iapa poate fi dată la armăsar.

Vaccinurile moarte par a fi de un real folos în combaterea acestei infecţii. Pop şi Marinov recomandă ca iepele din hergheliile infectate să fie vaccinate în două reprize, şi anume între a 2-a şi a 3-a şi între a 7-a şi a 9-a lună de gestaţie. Fiecare repriză constă din trei injecţii subcutane făcute respectiv cu 1,3 şi 5 ml de cultură omorîtă prin formol.

Bacteriogaful este socotit, de Pop şi colaboratorii, ca un factor care poate juca un rol în stingerea epizootiilor de avort la iapă.

Alimentaţia, după cercetările experimentale făcute în U.R.S.S. de Poddubski şi Alikajew (1940), are un rol important în apariţia avortului salmonelic al iepelor. Autorii constată că la iepele care primesc raţii normale (6 kg de fîn, 2 kg de ovăz, 2 kg de tărîţe de grîu, 15 g de fosfat de calciu, 25 g de sare, 50 ml de untură de peşte) nu se produce avort spontan şi că ingestiile masive de *Salm. abortus equi* sînt negative. Din contră, avortul se poate produce spontan, iar ingestiile de *Salm. abortus equi* sînt pozitive la iepele cu o alimentaţie incompletă — săracă în fosfor — şi la care se produce, în consecinţă, un dezechilibru în metabolismul fosforului. In profilaxia avortului salmonelic, condiţiile de alimentaţie şi igienă pot avea deci un rol important.

Infecţiile salmonelice, la cabaline, se pot manifesta şi prin alte tulburări decît prin avorturi; astfel, se observă că unele infecţii primare ale calului ca gurma, anasarca, bronhopneumonia, precum şi ocluziile intestinale se pot complica prin intervenţia unei specii de *Salmonella*. Intervenţia salmonelei se caracterizează, clinic, prin febră, puls frecvent, diaree, iar la autopsie se constată o gastroenterită catarală, precum şi degenerări ale ficatului, cordului şi rinichilor. Din asemenea cazuri se izolează fie tipul *Salm. newport*, fie tipul *Salm typhi-murium*. *Salm. abortus equi* a fost găsită la caii bolnavi de catarul contagios al primelor căi respiratorii; germenul în aceste cazuri s-a izolat fie din fecale, fie din urină. La aceste din urmă animale, seroaglutinarea este uneori pozitivă, alteori negativă. Caii normali pot conţine aglutinine antisalmonelice în serul lor sanguin. Procentul de animale care conţin asemenea aglutinine este redus 0,3—1%. Animalele cu reacţii pozitive nu elimină decît rar bacteria în mediul exterior.

Salmonelozele oilor

(Salmonellosis abortus ovis)

Avortul este una din cele mai importante manifestări clinice ale infecţiei salmonelice la oaie; el este produs de *Salm. abortus ovis* şi trebuie socotit ca una din consecinţele unei infecţii salmonelice generale.

Agentul etiologic (*Salm. abortus ovis*) se deosebeşte, prin caracterele sale biochimice, culturale (cultură delicată pe agar), serologice şi de patogenitate (nu omoară şoarecele per os şi este puţin patogen chiar pe cale subcutană) de *Salm. abortus equi*. El este un epifit, putînd fi izolat de la oile sănătoase din materii fecale şi chiar din organe ca ganglioni limfatici, splină, uter etc. (Selivanov, 1952).

Salmonella, ca agent al avortului la oaie, a fost identificată în 1921, de Schermer şi Ehrlich şi apoi de alţi cercetători. În ţara noastră, Suhaci şi Isopescu au cercetat, în 1937, o enzootie de avort dintr-o turmă de oi (13,7% din oile turmei au avortat); enzootia a luat sfîrşit în urma vaccinării oilor cu vaccinuri moarte. Germenul izolat de la avortoni, a fost identificat ca *Salm. abortus ovis*. Serul oilor care au avortat aglutina suspensiile de *Salm. abortus ovis* la un titru mediu de 1/2 000. Ghenev (1939), în Bulgaria, descrie o enzootie de avort salmonelic. În total au avortat în cursul acestei enzootii, 903 animale; avortul s-a produs, de regulă, în a 4-a lună de gestaţie. Serul oilor infectate aglutina germenul izolat din avortoni pînă la titrul de 1/10 000. Avortul salmonelic la oaie a mai fost semnalat în Bulgaria şi de Sumrov şi Stoicev, 1956.

Simptome. Avortul nu este precedat, în general, de simptome manifeste: nu se observă, într-adevăr, de cele mai multe ori, o alterare a stării generale şi, mai ales, pofta de mîncare este conservată. După eliminarea fetusului se poate observa o scursoare vaginală şi uneori retenţia învelitorilor şi infecţii uterine. Aceste complicaţii pot provoca moartea oilor; în observaţiile lui Suhaci şi Isopescu, 8 oi, din cele 47 care au avortat, au murit în urma unor asemenea complicaţii. În unele cazuri, infecţia evoluează la miei foarte tineri în primele zile după fătare şi se manifestă prin febră, inapetenţă, diaree şi tulburări respiratorii. Animalul moare epuizat în cîteva zile. Infecţia, în aceste cazuri, poate fi de origine intrauterină sau extrauterină.

Modificări anatomice. La avortoni se constată în regulă generală, o infiltraţie a ţesutului conjunctiv subcutan şi prezenţa unor exudate seroase sau sero-fibrinoase în cavităţile seroase. Organele splanchnice sînt congestionate, splina mărită şi cu pulpa difluentă, ficatul friabil, rinichii moi. Mucoasa duodenală este puţin congestionată. Învelitorile fetale sînt edemaţiate, de aspect gelatinos, iar cotiledoanele uneori necrozate.

La oile moarte, în urma complicaţiilor survenite după avort, se găsesc leziuni congestive şi distrofice în organele interne, precum şi colecţii purulente în cavitatea uterină.

Diagnosticul avortului paratific se face prin examenul bacteriologic al avortonului și examenul serologic al oilor adulte. Germenul se izolează cu ușurință din organele interne ale avortonilor mieilor sau oilor moarte de salmoneloză.

Profilactic vaccinurile moarte dau rezultate satisfăcătoare; două injecții făcute la interval de 5—8 zile, respectiv cu 1 și 2 ml de cultură în bulion, formolată, reușesc, uneori, să oprească enzootia. O dată cu vaccinarea se recomandă izolarea oilor care au avortat, distrugerea avortonilor și învelitorilor, dezinfecție, schimbarea locului turmei și ameliorarea condițiilor generale de întreținere și hrană. Rolul factorilor de igienă și al alimentației, în producerea avortului, a fost demonstrat de numeroși cercetători. Selivanov (1952) a arătat, în condiții experimentale, că oile hrănite normal și ținute în adăposturi luminoase sînt mai rezistente ca cele cu carențe alimentare și ținute în locuri întunecoase. Afosforoza, dintre carențele alimentare, pare a avea cea mai mare importanță în apariția bolii. Rolul factorilor adjuvanți în apariția infecției rezultă și din cercetările experimentale făcute de Popovici și colaboratorii (1938). Autorii, administrînd, pe cale orală, cantități importante de cultură (50—250 ml), la oi gestante nu au putut provoca avortul decît la o oaie din șase. De asemenea, inocularea intrauterină nu a provocat avort.

Salmonelozele rozătoarelor

Șoarecele. Löffler, în 1890, a observat, în crescătoria de șoareci a Institutului de igienă din Greifswald, o epizootie care a omorît 69% din întregul efectiv; de la șoarecii morți el a izolat o bacterie mobilă, Gram negativă, pe care a numit-o *Bact. typhi-murium* și care, prin cercetările ulterioare, s-a dovedit a fi o salmonelă identică, biochimic și serologic, cu tipul *Aertrycke* sau tipul *Breslau*, izolate din intoxicațiile alimentare de la om. Epizootii, de felul celor observate de Löffler, sau constatat apoi în crescătoriile de șoareci ale diverselor institute de cercetări. Dat fiind caracterul contagios al infecției, s-a propus, în urma unor încercări făcute în Tessalia, ca aceste culturi să fie folosite la distrugerea șoarecilor sălbatici. Rezultatele obținute au fost, în general, bune și procedeul a fost adoptat pe o scară întinsă; comparativ, el este mai eficace decît substanțele toxice, mai ales pentru șoarecii din apartamente, magazii etc. Față de șoarecii de cîmp, activitatea acestor culturi este mai redusă.

Germenii se răspîndesc, cu această ocazie, în mediul uman și animal, dar nu s-au observat epidemii la om sau animale care să aibă, în mod incontestabil, ca origine, culturile folosite în scopul distrugerii șoarecilor.

Pentru distrugerea șoarecilor se folosesc tulpini a căror cultură în bulion, veche de 24 de ore, omoară, per os, șoarecele în 6—8 zile, iar pe cale subcutană în 24—48 de ore. Șoarecii infectați, per os, prezintă, după o incubație de cîteva zile, o stare de somnolență, eventual diaree, secreții conjunctivale, părul zbîrlit; animalul stă trist și ghemuit într-un colț al borcanului și moare în această poziție. La autopsie se constată o hipertrofie a splinei, zone necrotice (noduli paratifici) în ficat, nefrită și ente-

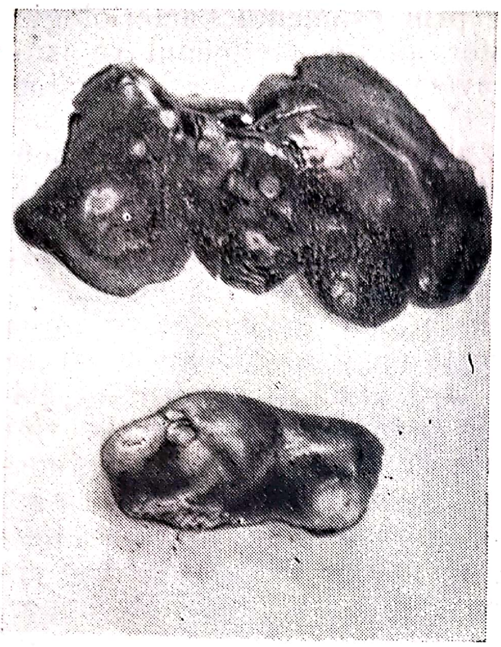


Fig. 24 — **Ficat şi splină de cobai cu leziuni nodulare produse de *Salmonella typhi-murium***

Infecţie naturală

rită hemoragică. Germenii se găsesc în toate organele şi pot fi puşi în evidenţă prin examenul microscopic direct; culturile sînt pozitive din sînge, măduva oaselor şi organe.

Şoarecii sînt sensibili şi faţă de alte specii din genul *Salmonella,* putînd fi purtători, eliminatori şi izvoare de infecţie pentru animale şi om.

Şobolanii sînt puţin sensibili faţă de acţiunea patogenă a diverselor salmonele virulente. Culturile de *Salm. typhi-murium,* chiar foarte virulente pentru şoareci, nu omoară şobolanii în libertate, dar îi ucide pe cei care se găsesc în captivitate. Pentru distrugerea şobolanilor s-au folosit diverse variante ale tipului *Gärtner.*

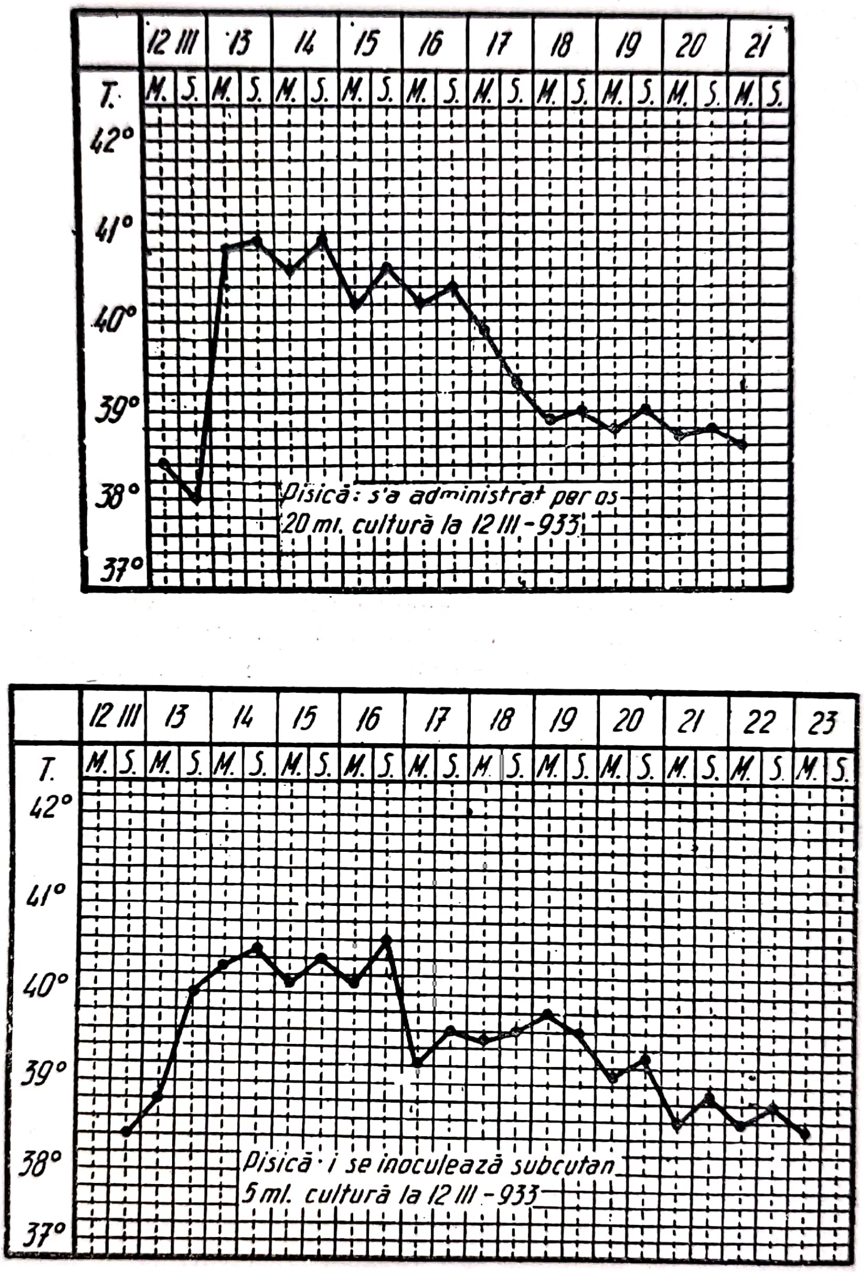
Şobolanii sălbatici pot fi purtători de salmonele şi interveni în difuzarea salmonelozelor la om şi animale. Combiescu şi colaboratorii (1951) găsesc, de exemplu, că procentul şobolanilor *(Rattus norvegicus)* de la care s-a izolat *Salmonella* a fost de 2,79% printre şobolanii capturaţi în oraşul Bucureşti şi de 37,41% printre cei capturaţi în abatorul oraşului. Tulpinile izolate de la aceşti şobolani au aparţinut speciilor *Salm. enteritidis* Gärtner (4,52%), *Salm. enteritidis* Danisz (28,34%), *Salm. typhi-murium* (3,18%), şi *Salm. cholerae suis* (1,93%).

Iepurele şi *cobaiul* se pot infecta cu germeni din genul *Salmonella:* infecţiile sînt sporadice. Cernăianu şi Popovici (1945) au izolat *Salm. suipestifer* din cadavrele unor iepuri de casă. Enzootii s-au observat şi la cobai. Cobaii, morţi în urma infecţiei salmonelice, prezintă leziuni necrotice nodulare în special în ficat.

Salmonelozele altor specii animale

Salmonelele au o capacitate patogenă adaptabilă celor mai diverse organisme. Ingestiile masive de germeni virulenţi produc tulburări mortale, mai ales atunci cînd infecţia salmonelică se asociază altor stări morbide.

Animalele de blănuri, ţinute în condiţii diferite de mediul lor natural, dau un procent important de victime, ca urmare a acţiunii patogene a diverselor tipuri de salmonele. Cernăianu a izolat *Salm. suipestifer* din cadavrele a doi pui de vulpe argintie. Stamatin a izolat acelaşi germen din cadavrele a doi dihori ţinuţi în captivitate şi hrăniţi cu carne de porc confiscată. Animalele prezentau zone de hepatizaţie întinse în ambii pulmoni. Tipul *Gärtner* şi *Breslau* a fost izolat de la diverse specii de animale de blană.



Pisică: s'a administrat per os 20 ml. cultură la 12 III - 933

Pisică · i se inoculează subcutan 5 ml. cultură la 12 III - 933

Fig. 25 — Curba termică în infecţia experimentală cu *Salmonella suipestifer* la pisică

Carnasierele — cîinele şi pisica — sînt foarte rezistente faţă de acţiunea patogenă a salmonelelor ; infecţii spontane sînt rar întîlnite. Experimental, administrarea per os, la cîine, a unor doze masive de *Salm. suipestifer* nu produce decît diaree şi febră trecătoare.

BIBLIOGRAFIE

AHMEDOV M. A. — Folosirea mediului electiv Levin pentru depistarea bacteriilor din grupul paratific din carne și din viscerele animalelor *Ghighiena i Sanitaria.* 1953, 9, p. 54.

ARHANGHELSKI I. — Contribuțiuni la studiul epizootologiei paratifozei vițeilor, *Veterinaria*, 1950, nr. 1, p. 18.

BADENSKI A. și IONESCU M. — Mediul Levin uscat pentru diferențierea germenilor din grupele Shigella, Salmonella și Escherichia coli, *Revista de igienă, microbiol. și epidemiologie,* 1955, nr. 1, p. 84.

BALȘ M. și CĂRUNTU F. — Tratamentul actual al febrei tifoide *Rev. med. int.* 1952, Nr. 5, p. 21.

BERNSTEIN A. și LEDERBERG J. — Aglutinarea salmonelelor mobile prin acridine. *J. Bact.* 1955, 69, p. 142.

BIVOL EM. și BADENSKI A. — Specificitatea bacteriofagului tific în raport cu originea infecției, *Arch. Roum. de Path. Expér.,* 1942, 12, p. 525.

BOBOVICI V. — Culturile bacteriene uscate în combaterea rozătoarelor, *Mikrobiologhia,* 1952, nr. 2, p. 187.

BORCILĂ I. — Crearea de purtători de Salm. enteritidis la iepuri și găini, *D. Tierärztliche Wochenschrift,* 1934, 42, p. 802.

BORCILĂ I. — Încercări de imunizare cu anatoxină și cu anacultură de bacterii Breslau și Gärtner la șoareci, *D. tierärztliche Wochenschrift,* 1935, 43, p. 37.

BUGEAC T. și col. — Cercetări asupra purtătorilor și excretorilor de salmonele la porci, *Anuarul Institutului de Patologie și igienă animală,* 1956, 6, p. 47.

BUTTIAUX R., GAUMONT R. și MOREL P. — Salmonelle în ganglionii mezenterici ai porcului, *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 81, p. 236.

CAHAN A. și col. — Sensibilitatea bacililor tifici la cloramfenicol și nitrofuran, *Revista de Igienă, Microbiologie și epidemiologie,* 1955, nr. 4, p. 71.

CIRSTEȚ I. — Frecvența salmonelelor în materii fecale la porcii normali și bolnavi de pestă. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1951—1952, 3, p. 101.

CERNĂIANU C. — Asupra tifozei aviare în Romînia, *C. R. Soc. Biol.* 1926, 95, p. 1575 și *Bul. Soc. Path. Exotique,* 1926, p. 347.

CERNĂIANU C. și POPOVICI I. — Hemaglutinarea rapidă în infecția pullorică a găinilor. *C. R. Soc. Biol.* 1931, 108, p. 1000

CERNĂIANU C. și POPOVICI I. — Diareea albă a puilor (Bacillus pullorum, Rettger) în Romînia, *C. R. Soc. Biol.,* 1930, 105, p. 85.

CERNĂIANU C. și POPOVICI I. — Infecția paratifică spontană la porumbel, produsă de bacili de tip Aertrycke sau Breslau. Incercări de vaccinare. *C. R. Soc. Biol.,* 1933, 112, p. 829.

CERNĂIANU C. — Noi cercetări asupra paratifozei la porumbel. Incercări de vaccinare în mediu foarte infectat. *C. R. Soc. Biol.,* 1934, 116, p. 264.

CERNĂIANU C. — Infecția paratifică spontană la canari produsă de un bacil de tip Breslau, *C. R. Soc. Biol.,* 1934, 116, p. 262.

CERNEA I. — O epizootie de paratifoză la porumbel, *Arhiva veterinară,* 1934, 26, p. 119.

CHERRY W. B. și col. — Un procedeu simplu pentru identificarea genului Salmonella cu ajutorul bacteriofagului specific, *J. Lab. clin. Med.* 1954, 44, p. 51.

COMBIESCU D. şi col. — Răspîndirea microorganismelor din grupul Salmonelelor printre rozătoarele sălbatice de la noi, *Comunicările Acad. R.P.R., ştiinţe medicale,* 1951, 1, nr. 1.

DANDEA M. şi col. — Sensibilitatea diverselor tipuri de Salmonella la streptomicină. *Probleme veterinare* 1957, nr. 5, p. 51.

DEMIDENKO I. G. — Imunizarea vacilor în vederea prevenirii paratifosului la viţei, *Veterinaria,* 1950, nr. 2.

DERLOGEA H., SUHACI I. şi CARABAŞU E. — Observaţiuni asupra paratifosului purceilor, *Arhiva veterinară,* 1942, 34, nr. 1—2 p. 20.

GARD SVEN — Fenomenul de roire la grupul Salmonella şi folosirea sa practică, *Z. f. Hyg,* 1938, 120, p. 615.

GASPARD V. şi ALEXENCO EC. — Contribuţiuni la studiul comportării curbei titrului aglutininelor şi a eliminărilor de germeni în toxiinfecţiile alimentare cu B. aertryke, *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie,* 1952, nr. 6, p. 18.

GHENEV C. — Cercetări asupra avortului la oi produs de B. paratyphi abortus ovis, *Lucrarea nr. 1 a Camerei agricole Burgas,* Bulgaria, 1939.

GORET P. şi col. — Invaliditatea distincţiei între Salm. gallinarum şi Salm. pullorum. *Ann. Inst. Past.,* 1956, 91, p. 31.

JONES K. R. şi HENDERSON W. — Izolarea Salm. pullorum de la Chinchila *Am. Vet. Med. Ass.,* 1953, 123, p. 213.

ISTRATI şi MEITERT T. — Mediu selectiv pentru izolarea bacililor Shigella şi Salmonella, *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie,* 1953, nr. 6, p. 40.

KOLOMAKIN G. şi SARSENOV U. — Combaterea paratifozei la viţei, *Veterinaria,* 1955, nr. 10.

KONDRATIEV A. I. — Vitele cornute mari purtătoare şi excretoare de paratifici, *Veterinaria,* 1955, nr. 4.

KUJUMGIEV I. — Diferenţierea între Bact. pullorum (Rettger) şi Bact. gallinarum (Klein) cu ajutorul aglutinării nespecifice, *Giornale di Batt. e Immunologia,* 1937, 19.

LUCAS A. şi col. — *Réc. Méd. Vét.,* 1951, 127, p. 547.

MAGHERU G. şi col. — Proprietăţile germenilor tineri de S. typhi, *Arch. Rom. Epid. Microbiol.,* 1956, 1, p. 7.

MAUCH A. şi STOENESCU V. — Dezinfecţia incubatoarelor în plină funcţiune, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1953, 4, p. 198.

NIKOLSKI N. M. — Despre paratifoza oilor, *Veterinaria,* 1952, nr. 11, p. 14.

ORLOV S. E. — Despre avortul paratific la oi, *Veterinaria,* 1949, nr. 11.

POP A. şi MARINOV I. — Cercetări asupra etiologiei şi profilaxiei avorturilor microbiene epizootice observate la iapă în Romînia, *Revista de medicină veterinară şi zootehnie,* 1944, 55, nr. 1.

POPOVICI I. — Prezenţa B. Gärtner la şobolanii sălbatici din Iaşi, *C. R. Soc. Biol.,* 1937, 124, p. 687.

POPOVICI I. şi MAGUREANU F. — Cercetări experimentale asupra avortului paratific la oi, *Arhiva veterinară,* 1938, 30, p. 61.

POPOVICI I. şi BICA-POPII V. — Cercetări asupra fermentării maltozei de către grupul Salmonella Gallinarum-Pullorum, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 78.

POPOVICI M. — Relațiuni antigenice între grupul Salmonella și grupul coliform, *Revista de igienă, microbiologie și epidemiologie,* 1952, nr. 6, p. 20.

PROHOROV I. — Microflora aerobă a cărnii și organelor viteilor bolnavi, *Veterinaria,* 1950, nr. 1, p. 47.

SELIVANOV A. V. — Influența factorilor alimentari și de întreținere asupra evoluției infecției paratifice la oi. *Trudî vsesoiuznogo instituta experimentalinoi veterînarii* 1952, 19, p. 191.

SELIVANOV A. V. — Purtătorii și eliminatorii de germeni în paratifoza oilor, *Trudî vsesoiuznogo instituta experimentalinoi veterinarii,* 1952, 19, p. 206.

SERTIK V. și BOULGAKOV N. A. — Sensibilitatea tulpinilor de Eberthella typhi la bacteriofag, în relații cu caracterele antigenice, *C. R. Soc. Biol.,* 1936, 122, p. 35.

SERTIK V. și BOULGAKOV N. — Aglutinarea prin tripaflavină a Salmonelelor cu structura antigenică specifică flagelară, *C. R. Soc. Biol.,* 1936, 123 p. 951.

ȘTEFĂNESCU M., NEUMANN R. și DAMAKER V. — Un caz deosebit de purtător de lungă durată de Salmonella enteritidis, *Revista de igienă, microbiologie și epidemiologie,* 1953, nr. 6, p. 38.

STOENESCU V. și CIOMIRTAN GH. — Cercetări experimentale în legătură cu difuzarea infecției pulorice în incubatoarele de volum, *Anuarul Institutului de Patologie și igienă animală,* 1953, 4, p. 203.

STOENESCU V. — Aspecte epizootologice ale diareii albe bacilare, *Pr. Zoot Veterinare,* 1956, nr. 5, p. 40.

SUBBOTIN M. V. — Cu privire la patogeneza și tratamentul viteilor bolnavi de paratifoză, *Veterinaria,* 1955, nr. 10.

SUHACI I. — Despre o epizootie de paratifoză la canari produsă de Salmonella typhimurium (B. Breslau), *Arhiva veterinaria,* 1935, 27, p. 189.

SUHACI I. și ISOPESCU I. — Asupra unei epizootii de avort infecțios la oaie produs de Salmonella abortus ovis în Romînia. *Arhiva veterinară,* 1937, 29, nr. 2, p. 17.

SUMROV I. și STOICEV S. — Avortul salmonelic la oaie, *Veterinarno Delo,* 1956, 3, p. 33.

TION A. P. — Cîteva observații privind combaterea paratifozei la viței, *Veterinaria,* 1949, nr. 11.

VIRAT B. și col. — Cu privire la diferite tipuri de Salmonele aviare, *Ann. Inst. Past.* 1955, 88, p. 133.

VIȘNEVSKI P. — Etiopatogeneza septicemiei viteilor noi născuți și tineri, *Veterinaria,* 1949, nr. 6, p. 11

VIȘNEVSKI P. — Diagnosticul, profilaxia și tratamentul septicemiilor la viteii noi născuți și la tineretul bovin, *Veterinaria,* 1951, 1, p. 6.

WASEN ANDERS — Asupra unui mediu de îmbogățire a bacililor paratifici bazat pe mobilitatea și aglutinarea directă a bacililor în mediu, *C. R. Soc. Biol.,* 1930, 104, p. 523.

WASSERMANN M. și ȘAPHRA I. — Folosirea bacteriofagilor în tipizarea culturilor de SALMONELLA, *J. Bact.* 1955, 69, p. 97.

WYNOHRADNYK VL. — Despre o epizootie de diaree bacilară a puișorilor. *Arhiva veterinară,* 1927—28, 20, p. 157.

WYNOHRADNYK VL. și PELIMON C. — Observațiuni asupra frecvenței infecțiunii cu diaree albă bacilară la păsări adulte, *Arhiva veterinară,* 1934, 26, p. 236

WYNOHRADNYK VL. — Bacterium gallinarum și B. pullorum. *Deut. Tietärzl Wochensch.* 1940, 48, nr. 6, p. 61.

ZAGAEVSKI I. — Paratifosul raţelor, *Selhozghiz, Moscova,* 1951.

ZILIŞTEANU C. și col. — Studiul electivității mediului cu selenit de sodiu pentru izolarea bacilului tific. *Lucrările Sesiunii științifice a Inst. „Cantacuzino",* 6—8 decembrie 1955, p. 35.

ZILIŞTEANU C. și col. — Contribuții la serologia febrei tifoide. *Arch. Rom. Epid. Microbiol.,* 1956, 1, p. 79.

Genul *Shigella* Castellani și Chalmers, 1930

În acest gen sînt grupate bacterii Gram negative, constant imobile, localizate în tubul digestiv la om și animale și producînd, în special la om, tulburări gastrointestinale. Importante, din acest gen sînt speciile care produc dizenteria umană, cu specia tip *Sh. dysenteriae.* Se cunoaște o singură specie patogenă pentru animale, și anume *Sh. equirulis.*

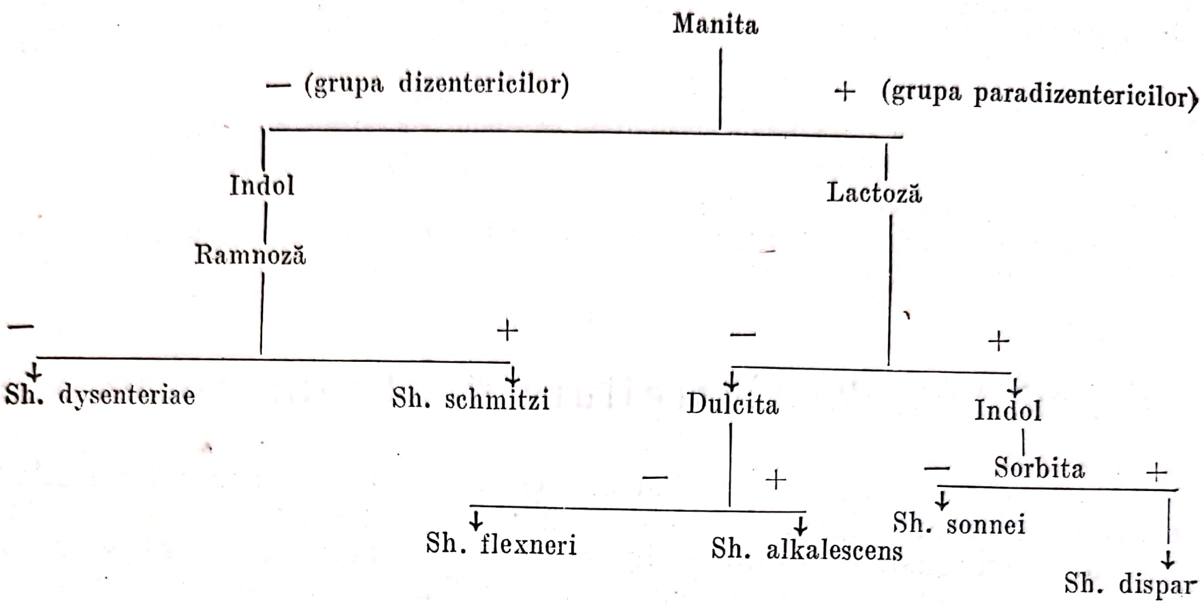
Shigella dysenteriae (Shiga) Castellani și Chalmers, 1919

Sinonime: *Bacillus dysenteriae* Shiga, 1898.
Bacterium dysenteriae (Shiga-Kruse) Lehmann și Neumann, 1912.

Bacterie patogenă pentru om, la care produce tulburări gastrointestinale. Identificată de Grigoriev (1891) în Rusia, apoi izolată de Shiga în Japonia (1898—1901) și de Kruse (1900—1901) în Germania. Acest din urmă cercetător studiază în amănunt germenul, fixîndu-i poziția în sistematica bacteriană. După aceste prime cercetări, alți autori au găsit, în cazurile de dizenterie umană, germeni mai mult sau mai puțin apropiați de cei izolați de Shiga și Kruse, astfel că, pe lîngă specia tip *Sh. dysenteriae,* există și alte tipuri sau specii ca *Sh. schmitzi* sau *Sh. ambigua* izolată de Schmitz (1817) de la prizonierii romîni: *Sh. flexneri* izolată și descrisă de Flexner (1900) în Filipine și de Strong și Musgrave (1900) la Manila, *Sh. sonnei* descrisă de Sonne în Danemarca (1915) etc. Aceste tipuri sau specii se deosebesc prin unele caractere de specia tip, așa cum se vede în alăturata schemă de clasificare, dată după Topley și Wilson (1946).

După cum se vede din schemă, bacilii dizenterici se împart în două grupe, după cum fermentează sau nu manita; în grupa celor care nu fermentează manita există două specii, care se disting între ele după producția de indol și fermentarea ramnozei; *Sh. dysenteriae* nu produce indol și este inactivă față de ramnoză, iar *Sh. schmitzi,* din contră, produce

Clasificare provizorie a bacililor dizenterici



indol și fermentează ramnoza. În grupa celor care fermentează manita există patru specii, care se deosebesc între ele prin modul de comportare față de lactoză, dulcită și sorbită și prin producția de indol.

Speciile din schema de mai sus se deosebesc între ele și din punct de vedere al structurii antigenice. *Sh. dysenteriae* diferă în parte, dar nu total, de *Sh. schmitzi*; un ser preparat cu o tulpină de *Sh. dysenteriae* aglutinează ambele specii, dar *Sh. schmitzi* la un titru mai redus. *Sh. schmitzi* nu absoarbe toate aglutininele dintr-un ser preparat cu *Sh. dysenteriae* și invers. Speciile care fermentează manita au o structură antigenică mai complexă, în cadrul fiecărei specii existînd mai multe tipuri serologice. *Sh. flexneri,* de exemplu, conține, după Boyd (1940), șase tipuri serologice, notate cu I, II, III, IV, V, și VI.

Caractere morfologice. *Sh. dysenteriae,* ca și celelalte specii înrudite, este o bacterie polimorfă, cocobacilară, Gram negativă. Măsoară 2—3 microni lungime și 0,5—0,7 microni lățime. Se aseamănă morfologic cu salmonelele și colibacilii, de care se distinge prin absența cililor și deci a mobilității. *Sh. dysenteriae* este imobilă nesporulată, necapsulată.

Medii și caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii obișnuite, în condiții de aerobioză, fiind aerob facultativ. Tulbură în mod uniform bulionul, iar pe agar formează colonii rotunde. Se disociază cu ușurință și frecvent, dînd forme R.

Proprietățile biochimice au fost, în parte, rezumate în schema de clasificare dată mai sus. În plus, trebuie spus că toate speciile fermentează glucoza cu producție de acid, dar nu de gaz (o singură specie face excepție și anume *Sh. newcastle*), că cele mai multe nu atacă zaharoza (fac excepție speciile *Sh. sonnei* și *Sh. dispar*), că toate reduc nitrații în nitriți, nu dau reacția Voges-Proskauer, reduc albastrul de metilen în culturile din bulion, formează amoniac, dar nu formează hidrogen sulfurat, nu lichefiază gelatina, nu coagulează laptele. Dau proba catalazei pozitivă (excepție face *Sh. dysenteriae*). Nu hemolizează globulele roșii de oaie (excepție fac unele tulpini ale speciei *Sh. alkalescens*).

Rezistență și ecologie. Sînt sensibili la căldură și antiseptice: la temperatura de 55°C germenii se distrug într-o oră. Fenolul în concentrație de 0,5%, îi omoară în 15—30 de minute. Se distrug repede în sol — în 9—12 zile și în materiile fecale; foarte repede în fecalele acide — cîteva ore— și mai încet în cele alcaline — cîteva zile.

Se izolează de la bolnavi de dizenterie și de la purtători.

Patogenitatea și elementele ei

Sh. dysenteriae și, în parte, *Sh. schmitzi* sînt mai patogene ca celelalte specii, ceea ce se datorește faptului că ele sînt toxigene. Cercetările lui Kraus și Doerr (1905) și în special cele întreprinse de Boivin și Mesrobeanu (1937—1938) au dovedit că *Sh. dysenteriae* posedă două fracții toxice: una este de natură proteinică, precipită în prezența acidului tricloracetic, este sensibilă la căldură, se găsește în filtratele de cultură, este prezentă la formele S și R (Haas, 1937, Istrati, 1938), are afinitate pentru sistemul nervos (toxina neurotropă), este un bun antigen și e neutralizată de anticorpii respectivi; a doua este de natură glucido-lipidică, se găsește numai la formele S, este un antigen slab și are afinitate pentru intestin (toxină enterotropă).

Infecția experimentală. Germenul *Sh. dysenteriae* nu reproduce la animale o infecție asemănătoare cu cea de la om. De altfel, animalele suportă, pe cale bucală, cantități enorme de bacili, fără a prezenta tulburări manifeste. Pe cale intravenoasă sau intraperitoneală bacilii produc, mai ales la iepure și șoarece, diaree, paralizii, colaps și moartea în 1—4 zile. La autopsie se găsesc, în special, leziuni congestive, hemoragice și uneori necrotice pe mucoasa intestinală, mai ales pe cea a cecului și colonului. Cobaiul este mai rezistent și moare numai în urma administrării unor doze mari de cultură, pe cale intraperitoneală. Pisica și cîinele sînt refractari. O infecție asemănătoare cu cea de la om se poate reproduce la maimuțe. Accidentele de laborator au arătat că omul, în cazul ingestiei culturii, se îmbolnăvește. Simptomele apar după o perioadă de incubație de 48 de ore.

Infecția naturală se întîlnește numai la om, este răspîndită pe tot pămîntul și se manifestă printr-o diaree gravă. Materiile fecale sînt fluide, sanguinolente. Infecția este mai gravă la copii, în special, la cei mai mici de 1 an, ca la adulți. Procentul de mortalitate este în funcție de vîrstă și el poate atinge, în unele ținuturi, cifra de 45%. Vindecații rămîn de cele mai multe ori purtători de germeni pe o durată uneori foarte lungă, cîteva luni, pînă la 1 an. *Sh. flexneri* pare a lăsa cei mai mulți purtători.

Sursa principală de infecție o constituie purtătorii care elimină bacteriile prin materiile fecale. De aici germenii ajung în apă și mai ales în alimente — lapte. Muștele au un rol important în difuzarea infecției, ceea ce reiese și din constatarea că punctul culminant al epidemiilor coincide cu cea mai mare invazie de muşte. De asemenea, se observă că dizenteria bacilară este mai frecventă vara şi în zonele geografice în care muştele sînt mai numeroase şi condiţiile de igienă mai puţin satisfăcătoare. Boala apare adesea în aglomeraţii şi este frecventă în caz de război, unde, pe lîngă aglomeraţiile umane, intervine şi o înrăutăţire a condiţiilor igienice.

Diagnosticul se sprijină pe examenul clinic şi de laborator. Germenii se izolează, adeseori, în cultură pură din materiile fecale (mucus şi sînge), dar ei nu se găsesc în sîngele circulant sau urină. Infecţia este deci localizată la tubul digestiv. Aglutinine apar totuşi în sîngele circulant începînd cu a şasea zi de boală şi prezenţa lor este folosită în scop de diagnostic. Drept antigen se folosesc suspensii care conţin cît mai multe tipuri serologice, şi în special cele ale regiunii.

Profilaxie. In scop profilactic se recomandă descoperirea şi sterilizarea purtătorilor, combaterea muştelor, ridicarea nivelului igienic general şi a igienei alimentare în special.

Tratamentul se face cu sulfamide — în special sulfaguanidină. S-a recomandat, dar rezultatele au fost slabe, serul imun şi bacteriofagul. Antibioticele — streptomicina, aureomicina, cloramfenicolul — administrate pe cale bucală duc în scurt timp la dispariţia simptomelor, însă nu realizează totdeauna sterilizarea organismului.

BIBLIOGRAFIE

SHIGA — *Zbl. f. Bakt. I. Abt.*, 1898, 23, p. 599.

GRIGORIEV A. V. — Problema microorganismelor din dizenterie, *Med. Jurnal*, 1891, nr. 3, p. 73.

ŞTIRBEI D. V. BABICI K. I — Opredeteli Bacterii patogenîh olia, celoveka, *Medghiz. Moscova*, 1955.

BOYD — *Trans. Roy. Coc. Med. a Hyg*, 1940, 33, p. 553.

Shigella equirulis (Blieck şi Helsbergen) Edwards, 1931

Sinonime: *Bacterium viscosum equi* Magnuson, 1917

Bacteria a fost izolată de pe traiectul digestiv al cabalinelor normale, precum şi din diverse infecţii localizate sau generalizate de la cabaline sau de la alte specii. Kogler o izolează din amigdalele cailor sănătoşi într-o proporţie de 56%, Theiler (1902), ca şi alţi cercetători, din abcese renale de la mînji sau cabaline adulte, Magnuson (1917) din artrite de la cabaline. Dimock şi colaboratorii (1929) din anevrismele verminoase ale arterelor mezenterice de la cal, Jarmai (1929), Popovici (1942) din infecţii cu caracter septicemic ale cabalinelor tinere sau adulte. Bacilul vîscos este unul din agenţii piosepticemiei mînjilor.

Caractere morfologice. Germenul este polimorf. In culturi, ca şi în leziuni, bacteria se prezintă ca un bastonaş drept sau puţin încurbat, avînd lungimi variabile; uneori de-abia mai lung decît lat, alteori lungimea depășește de 2—3 ori lățimea. Diametrul transversal variază și el de la un germen la altul. Gurvitch (1931) atribuie germenului următoarele dimensiuni: lungimea 2—3 microni, lățimea 0,5—0,1 microni; celulele pot fi izolate sau grupate cîte 2—3 sau în lanțuri scurte; ele se pot prezenta și sub formă de filamente.

Bacteria nu are cili, nu formează spori și nici capsulă.

Gram negativă.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă în medii obișnuite, la temperaturi variind de la 18 la 45°C. Temperatura optimă 37°C. Nu crește la 45,5°C (Stuart și col.).

Aerob facultativ.

Preferă, se pare, medii ușor acide dar îi convin și se multiplică abundent și în cele alcaline.

În bulion, cultura este evidentă după o incubație de cîteva ore la 37°C. După o incubație de 24 de ore, bulionul poate fi, fie uniform tulbure, fie limpede, conținînd, în acest din urmă caz, flocoane pe lîngă pereții tubului și la fundul lui. Unele tulpini constituie pe fundul tubului, chiar după o incubație de 24 de ore, un depozit care se aseamănă foarte mult cu cel ce se întîlnește în culturile vechi de *Pasteurella.* Agitînd tubul, depozitul se răsucește pe el însuși, formîndu-se ca un fuior care traversează mediul, din fund pînă la suprafață. Omogenizarea acestor culturi este dificilă. Bacteria secretă o substanță mucoasă, care dă mediului lichid o consistență siropoasă, ce se accentuează pe măsură ce cultura se învechește; unele tulpini, după o incubație de 3 zile, pot transforma bulionul într-un gel. Mediul se lichefiază în zilele următoare și, în același timp, se limpezește.

Pe agar, bacteria constituie colonii circulare, ale căror dimensiuni pot atinge 5—8 mm. Inițial, ele au o culoare albăstruie, pentru a deveni, mai tîrziu, gri-opace. Centrul coloniei este ușor bombat, de culoare gălbuie, iar periferia plată, transparentă. Aspectul coloniilor pe agar poate varia și Sarnowiec (1942) la noi în țară, a descris două forme denumite O (opac) și T (transparent), care carespund respectiv tipului R și S. Cele două variante se disting cultural și, într-o oarecare măsură, serologic.

Culturile de *Shigella* pe agar se caracterizează prin aderența lor la mediu. Coloniile nu se pot ridica nici cu acul și nici prin spălare. Se pot izola însă tulpini care nu au acest caracter, așa că aderența la mediu nu poate constitui un criteriu sigur de diferențiere de alte specii Gram negative.

Bacteria se cultivă în apă peptonată, apă de drojdie, într-o soluție 5% ser de cal în apă fiziologică. Se dezvoltă slab în lapte. Nu dă o cultură vizibilă pe cartof.

Rezistență. Germenul este sensibil față de căldură, lumină și antiseptice. Temperatura de 60°C îl omoară într-un timp scurt. Se afirmă, de unii autori, că germenul este omorît într-un minut la 60°C. După Gurvitch (1931), culturile nu pot fi, în mod sigur, ucise, decît în 30 de minute, la 65°C.

Lumina solară directă distruge o cultură în 15 minute.

Creolina 1%, sublimatul 0,25%, fenolul 2% omoară bacteria aproape instantaneu. În soluție de 0,1% fenol, bacteria rezistă 5 ore, iar în 0,5%, 5 minute (Gurvitch, 1931).

Conservarea tulpinilor în laborator este dificilă, pentru că germenii mor repede în culturi. Durata viabilității este în funcție de mediu și temperatură. Culturile pe geloză sînt transplantabile după 5—8 zile, dar nu mai tîrziu. Din gelatină germenii sînt transplantabili în 15—18 zile. Gurvitch recomandă ca tulpinile, în vederea conservării lor, să fie transplantate din 7 în 7 zile. Chiar în aceste condiții, unele tulpini devin netransplantabile, după un număr oarecare de treceri pe mediile artificiale. Bulionul cu sînge, ca și geloza profundă cu sînge, ar conserva un timp mai îndelungat viabilitatea culturilor. O influență asemănătoare ar avea serul de bou sau de cal. Unele tulpini par a se conserva chiar în bulion sau pe agarul obișnuit, un timp destul de lung, și pot fi transplantate din bulion după 60 de zile, iar de pe agar după 45 de zile.

Proprietăți biochimice. Bacteria fermentează cu o slabă producție de acid dar fără producție de gaz, glucoza, lactoza, zaharoza, maltoza, galactoza, rafinoza, xiloza, levuloza, trehaloza, manita și salicina. Este inactivă față de arabinoză, dulcită, sorbită, inosită, ramnoză, dextrină. Practic, se deosebește de *Pasteurella,* cu care are caractere culturale și morfologice asemănătoare, prin aceea că fermentează și lactoza și zaharoza. Se apropie prin unele proprietăți de colibacil.

Produce hidrogen sulfurat.
Nu lichefiază gelatina.
Coagulează inconstant laptele.
Hemolizează, uneori, globulele roșii.
Nu produce indol.
Reduce nitrații în nitriți.
Nu dă reacția Voges-Proskauer.

Echipament toxic. *Shigella,* ca și alte bacterii Gram negative, conține, așa cum au constatat Stamatin și Bogdan, un complex glucido-lipidopolipeptidic solubil în acid tricloracetic și altul nucleoproteinic solubil în alcali.

Complexul glucido-lipidic, chiar în doză însemnată, nu produce nici o modificare a stării generale la iepuri. În schimb, complexul nucleoproteinic, în condiții și doze egale, produce o leucopenie manifestă, cu vasoconstricție periferică și eventual moartea animalului.

Shigella ca și *Pasteurella,* conține deci o endotoxină de natură nucleoproteidică, care poate produce tulburări, atunci cînd germenul, ajutat de alți factori, se poate multiplica în țesuturile vii.

Structură antigenică. Structura antigenică este necunoscută. Se pare că ar exista mai multe tipuri serologic distincte. Kujumgiev (1954) afirmă că între *Sh. equirulis* și *Esch. coli* există relații antigenice. Autorul constată, într-adevăr, că suspensiile de *Shigella* tratate în prealabil cu acid tricloracetic, sînt aglutinate de un ser anticolibacilar la același titru ca și suspensiile de colibacili; de asemenea, un ser preparat cu suspensii de celule bacteriene *(Shigella)* din care s-a extras, prin tratare cu acid tricloracetic, antigenul acidosolubil de suprafaţă, aglutinează la titruri sensibil egale atît suspensiile de *Shigella,* cît şi cele de colibacili. Aceste rezultate s-ar explica prin prezenţa, în soma celulelor de *Shigella,* a unui antigen somatic identic cu al colibacililor, însă care la celulele de *Shigella* normale este total mascat de antigenul acidosolubil. Într-adevăr, suspensiile de *Shigella* netratate cu acid tricloracetic nu sînt aglutinate de serul anticolibacilar şi inoculate la animal nu produc aglutinine active faţă de colibacili.

Patogenitate

Germenul se multiplică în ţesuturi, are afinitate pentru seroase, dar se poate multiplica şi în sînge, provocînd septicemii.

Infecţia experimentală poate fi realizată la unele animale de laborator dacă se folosesc doze mari de cultură şi dacă cultura se injectează pe căi potrivite. Calea intraperitoneală pare cea mai propice. Tulpinile de curînd izolate omoară şoarecele şi cobaiul aproape regulat. O doză de 0,2 ml de cultură în bulion de 48 de ore, administrată pe cale intraperitoneală, omoară şoarecele în 20—24 de ore sau chiar mai puţin. Pe aceeaşi cale, o doză de 1 ml omoară 50% din cobai. Germenii se izolează de la şoareci din toate organele, iar de la cobai numai din cavitatea peritoneală. Culturile foarte tinere sînt după unii autori, mai virulente ca cele de 48 de ore. Pe cale subcutană, şoarecele este practic refractar, iar la cobai se produce o tumefacţie şi apoi un abces local, care se vindecă.

Şobolanul este refractar.

Iepurele nu poate fi infectat pe cale intraperitoneală sau intravenoasă. Cultura, administrată pe cale subcutană, produce un abces local vindecabil.

Un *cîine tînăr,* inoculat de Gurvitch, intracardiac, cu 5 ml de cultură, moare în 18 ore; germenul se izolează din ficat, splină şi rinichi, dar nu din sînge.

La *cal,* specie sensibilă în condiţi naturale, bacteria produce, experimental, tulburări care se apropie, în unele cazuri, de cele observate în piosepticemia mînjilor. Gurvitch, de exemplu, administrînd cultura, pe cale subcutană şi intraperitoneală, la un mînz de 6 zile, observă apariţia artritelor, pneumoniei şi stării generale proaste, simptome care caracterizează piosepticemia. La caii adulţi, Popovici nu observă, în urma inoculării unor cantităţi mari de cultură, pe cale intrapritoneală sau intravenoasă, tulburări clinice; pe cale subcutană, cultura produce un abces local.

Porcul şi rumegătoarele sînt refractare.

Tulpinile, virulente în momentul izolării, pierd patogenitatea prin treceri pe medii artificiale.

Infecţia naturală este întîlnită la cabaline şi foarte rar la porc sau alte specii. Infecţia la solipede evoluează sub două tipuri: un tip întîlnit la animalele adulte şi altul la animalele tinere.

Infecţia la animalele adulte, de 1 an sau mai mult, se grefează pe diverse stări patologice, ca inflamaţia căilor aeriene, gurmă, diverse intoxicaţii etc. Germenul a fost izolat, de exemplu, de la toate cabalinele moarte cu leziuni şi simptome de anemie infecţioasă în cursul unei enzootii din ţara noastră. Este foarte probabil că germenul pătrunde în circulaţia generală în momentul cînd funcţiunile defensive ale organismului şi-au pierdut eficacitatea. O ilustrare a acestor afirmaţii o găsim în cercetările privind intoxicaţia cu *Stahybotrys alternans*. Toxina acestei ciuperci produce o leucopenie, şi anume o agranulocitoză importantă; numărul globulelor albe din sînge poate scădea pînă la 1 000 sau chiar mai puţin pe 1 mm^3 (Popovici). Animalele intoxicate şi prezentînd această leucopenie mor cu simptome şi leziuni de septicemie hemoragică, iar din organe se izolează, constant şi în cultură pură, *Shigella equirulis*.

Pătrunderea germenilor din aparatul digestiv în organism pare a fi favorizată de prezenţa unor paraziţi — sclerostomi — care, lezînd mucoasa tubului digestiv, înlesnesc invazia bacteriilor. La caii morţi din cauza intoxicaţiei micotice amintite mai sus şi de la care se izolează, în mod constant, bacilul vîscos, s-a constatat, aproape regulat, o sclerostomiază masivă. Paraziţii singuri, în absenţa leucopeniei toxice, nu pot însă duce la instalarea unei infecţii cu caracter septicemic. Ei pot antrena bacteria în organism; aceasta se poate chiar multiplica în leziunile în care parazitul le provoacă, dar aceste infecţii rămîn localizate.

Infecţia, grefată pe stări morbide primare, poate evolua ca o septicemie gravă şi mortală, sau, ca o infecţie uşoară, urmată de localizări renale sau articulare.

Forma septicemică, acută, debutează prin febră, 41°C sau mai mult, tristeţe, somnolenţă, inapetenţă totală, puls şi respiraţie accelerate, edeme la pleoape, gît, piept, abdomen, picioare; hemoragii şi erupţii veziculoase pe mucoasele aparente; dureri stomacale, fecale striate cu sînge. Moartea survine în 6—72 de ore şi la autopsie se găsesc leziuni hemoragice. Sîngele este fluid, necoagulat şi de o coloraţie specială. Hemoragii de diverse întinderi se găsesc în ţesutul conjunctiv subcutan, pe seroase şi mucoase. Ganglionii limfatici sînt hemoragici şi pot conţine focare purulente. Tractusul gastrointestinal este congestionat. Hemoragii de diferite întinderi se găsesc în submucoasa intestinală şi bronhială. Un pichetaj caracteristic observă Popovici pe capsula splenică, pe mezenter şi în peretele intestinal. Pereţii cecului şi colonului, examinaţi prin trasparenţă, prezintă hemoragii punctiforme caracteristice. Meningele şi creierul sînt congestionate. Ventriculii cerebrali conţin un lichid roşiatic. Histologic, Popovici găseşte, în toate organele hemoragii disecante, fără reacţii inflamatorii.

Simptomele infecţiei sînt la unele animale, mai puţin violente, şi, în acest caz, vindecarea survine în 5—6 zile; ea poate fi completă sau poate fi urmată de localizări ale germenului în articulaţii sau rinichi, producînd respectiv artrite şi abcese renale de origine embolică.

Infecţia la tineret poate evolua fie ca o infecţie intrauterină şi atunci fetusul mort este eliminat înainte sau aproape în termen, fie ca o infecţie postnatală. Originea infecţiei pare a fi maternă, admiţîndu-se că iepele purtătoare de germeni infectează produsul, fie intrauterin, fie după naştere. Procentul de avorturi produse de *Shigella* poate atinge cifre importante (Cordier şi col., 1954).

Boala la animalele tinere are, uneori, un caracter contagios și, din această cauză, în unele crescătorii infectate nu se pot obține mînji; ei sînt fie avortați fie născuți la termen, însă slabi și neviabili, fie născuți sănătoși, dar se infectează de la mame îndată după naștere și mor.

Infecția mînjilor, ca și a animalelor adulte, nu este decît rareori primară. Ea se grefează, de regulă, pe anumite stări patologice, care sînt de obicei în legătură cu carențele alimentare ale iepelor-mamă.

Bacilul vîscos, la tineretul cabalin, poate interveni singur sau în asociație cu alți germeni condiționat patogeni, ca : streptococi, colibacili, salmonele etc. Singur sau în asociație el produce un sindrom numit piosepticemia mînjilor.

Iată, după datele din literatură, proporția în care se izolează diversele bacterii de la mînjii cu piosepticemie din mai multe focare enzootice.

Tabelul 15

Bacilul vîscos %	**Diplostreptococ** %	**Salmonella** %	**Coli aerogenes** %
25,40	47,40	—	3,50
30,90	36,90	—	27,10
25,20	29,90	7,70	16,70
33,30	21,00	13,70	3,70
24,30	39,30	15,00	21,20
15,15	22,73	6,06	7,58

Aceste date arată importanța pe care o are bacilul vîscos în producerea piosepticemiei mînjilor.

Infecția cu bacilul vîscos, la tineret, este cu atît mai gravă și cu o evoluție mai rapidă, cu cît apare mai repede după naștere.

Iată, după date din literatură, vîrsta la care au murit 108 mînji, la care s-a diagnosticat o infecție cu bacilul vîscos.

La 1 zi	39	mînji
La 2 zile	14	„
La 3 „	10	„
La 4 „	6	„
La 5—7 „	5	„
La 8—14 „	2	„
La 15—30 „	4	„
După 30 „	28	„

La mînji, infecția cu *Shigella* evoluează ca o septicemie gravă, aproape fără excepție mortală. Simptomele constau din inapetență totală, somnolență, febră — 40°C sau mai mult — respirație și puls accelerate, congestia mucoaselor. Animalul stă culcat, în decubitus total. Pielea şi extremităţile sînt reci. Moartea survine repede după apariţia simptomelor. S-a constatat, de exemplu, că din 56 de mînji care au prezentat simptome din prima zi de naştere 49 au murit în 2 zile.

Animalele, care mor repede după apariţia simptomelor, prezintă leziuni congestive şi hemoragice, situate în ficat, splină, intestine. Puncte şi sufuziuni hemoragice se observă pe seroase, mucoase şi în ganglionii limfatici. Miocardul şi musculatura cordului sînt degenerate şi au aspectul cărnii fierte.

Boala poate avea, la unii mînji, o evoluţie de o durată mai lungă, 7—8 zile sau mai mult. Această evoluţie se întîlneşte la animalele care se infectează mai tîrziu după naştere. Vîrsta le dă un grad oarecare de rezistenţă. Leziunile, la aceste animale, constau din artrite şi nefrite glomerulare şi catarale. Articulaţiile — unele din ele — genunchiului şi jaretului sînt tumefiate, calde dureroase şi împiedică mişcările animalului. Acesta este trist, abătut, somnolent. Temperatura nu depăşeşte mult peste normal. Animalul urinează puţin şi uneori prezintă diaree. Cadavrul, la deschidere, degajă un miros de urină. Edeme subcutane se pot găsi în diferite regiuni ale corpului. În jurul articulaţiilor bolnave se găseşte un edem gelatinos, iar articulaţia conţine o cantitate mare de lichid, uneori cu bule de gaz. Lichidul articular este de culoare galbenă, de consistenţă uşor siropoasă şi poate conţine, în suspensie, flocoane albe-gălbui sau coagule de fibrină. Organele interne sînt congestionate; pulmonul poate prezenta focare embolice. Ganglionii limfatici sînt congestionaţi şi hipertrofiaţi. Examenul microscopic al rinichiului pune în evidenţă o dilataţie a capilarelor şi o descuamare a celulelor epiteliale la nivelul glomerulelor. Zona medulară a rinichiului este normală. La animalele la care boala durează cîteva săptămîni, procesele renale şi articulare evoluează, iar la autopsie se constată focare purulente şi necrotice atît în articulaţii, cît şi în rinichi.

Diagnostic. Formele cu evoluţia rapidă, septicemică, se diagnostică, în mod sigur, prin examenul bacteriologic. Germenul se izolează în aceste forme din sînge şi organe. Culturile din măduva osoasă sînt, de regulă, pozitive. Formele cronice pot fi diagnosticate şi clinic.

Diagnosticul iepelor purtătoare, deci capabile să-şi infecteze produşii, se poate face prin seroaglutinare. Se constată că iepele care au avortat mînji morţi sau au născut mînji vii, sănătoşi, care însă s-au infectat după naştere, aglutinează culturile de *Shigella* în diluţii variind de la 1/100 la 1/500. Serul animalelor sănătoase nu aglutinează suspensiile bacteriene nici la diluţia de 1/50. Aglutinarea bacteriilor nu este vizibilă decît după 48 de ore la termostat.

Profilaxia. La animalele adulte, ca şi la tineret de altfel, infecţia cu bacilul vîscos se grefează pe stări patologice primare. Înlăturarea acestor stări pune la adăpost animalele de infecţie. Cum însă aceste stări nu pot fi totdeauna evitate, iar procesul patologic, în faza sa finală, este dominat de această infecţie şi moartea este provocată de această bacterie, se practică imunizarea animalelor sensibile. Vaccinurile pot fi folosite, dar serul imun poate fi și mai util, dat fiind caracterul sporadic al infecției și deci inutilitatea imunizărilor colective. Valoarea practică a prevenției prin ser sau vaccin sau al tratamentului prin ser este puțin cunoscută.

Pentru a evita infecția tineretului, trebuie la fel, să se înlăture cauzele care predispun mînzul față de acțiunea patogenă a acestui germen. În acest sens, hrănirea mamelor joacă un rol de primul ordin. Mînjii iepelor cu carențe alimentare se infectează frecvent, atît intrauterin, cît și postnatal. Alți factori debilitanți pot desigur interveni și pot duce la același rezultat. Eliminarea factorilor ajutători este, desigur, de o mare importanță în combaterea infecției la tineret, dar ținînd seama pe de o parte, că infecțiile masive pot produce boala în afara prezenței factorilor adjuvanți, și, pe de altă parte, că chiar în prezența acestora, măsurile de igienă pot evita infecția, este recomandabil să luăm măsuri care să împiedice accesul bacteriilor în organism. În acest scop, în grajdurile în care nasc iepele se va păstra cea mai desăvîrșită curățenie. Așternutul se va schimba cît mai des, evitîndu-se însă producerea prafului. Materiile fecale vor fi ridicate îndată după eliminarea lor, deoarece unii mînji, și anume cei cu carențe, mănîncă fecalele materne. Pentru a evita acest lucru, se recomandă ca mînjilor să li se pună botniță, îndată după naștere. Procedînd în acest fel se împiedică coprofagia și, în același timp, se poate reglementa suptul. În primele 36 ore după naștere mînzul nu va fi lăsat să sugă decît din 2 în 2 ore și o singură dată în timpul nopții, iar înaintea fiecărui supt ugerul va fi spălat. În același scop se recomandă ca îndată după naștere și după eliminarea învelitorilor să se spele coada și trenul posterior al iepei, pentru a evita infecția mînjilor cu germenii conținuți în lichidele fetale sau secrețiile vulvare.

Infecția la mînji se poate face și prin cordonul ombilical. Pentru a evita aceasta, cordonul va fi dezinfectat cu creolină, tinctură de iod sau alt dezinfectant. Formolul și acidul fenic pur, produc o uscare rapidă a cordonului și pot fi întrebuințate la badijonarea lui îndată după naștere.

Imunizarea iepelor-mame, în cursul gestației, previne, după unele cercetări, infecția intrauterină a fetusului și deci avortul. Se folosește drept vaccin o cultură în bulion de 15 zile, omorîtă prin căldură — 30 de minute la 65°C. Iepele gestante se inoculează de mai multe ori cu acest vaccin. Prima injecție se face cu 2 ml, iar ultima cu 5 ml. O protecție a mînzului după naștere se poate realiza prin inocularea subcutană sau intravenoasă a unei cantități de 400—500 ml de sînge matern. Sîngele iepelor vaccinate în timpul gestației este, probabil, mai activ decît al celor normale și nevaccinate. Sîngele matern poate fi înlocuit printr-un ser imun specific. Acesta se poate injecta mînzului îndată după naștere, dar poate fi injectat și iepelor gestante, nevaccinate, cu scopul de a evita infecția intrauterină a fetusului.

Tratament. Vindecarea mînjilor bolnavi, nu se obține decît rareori. Intervenția precoce poate însă salva unele animale. Se recomandă ca în crescătoriilor infectate, să se măsoare regulat temperatura mînjilor și îndată ce aceasta trece de 38,5—39°C să se intervină cu sînge matern—400—500 ml.

Se va practica un abces de fixație. Sulfamidele și în special antibioticele (penicilina și mai ales streptomicina) pot fi cu succes folosite. Streptomicina se administrează în doză de 2 g pe zi.

BIBLIOGRAFIE

GURVITCH B. M. — Biologia speciei Bact. viscosum equi, *Ann. Inst. Past.*, 1931, 46, p. 64.

JARMAI — *D.T.W.*, 1929, nr. 33.

KUJUMGIEV I. — Afinitate somatică între *Esch. coli* și *Sh. viscosa, Izvestia Mikrobiol. Institut. Sofia*, 1954, 5, p. 207.

MAGNUSSON — *Svensk. Veterinartijdskr*, 1917, 81 și *J. comp. Path. a. Therap*, 1919, 32, p. 143.

MIESSNER — *D.T.W.*, 1921, p. 185, 1922, 30, p. 473 și 1923, 31, p. 348.

SARNOWIEC W. — Contribuții la studiul disocierilor la Bacteria viscosum equi, *Arh. Vet.*, 1942, 34, p. 3.

STUART și col. — *J. Bact.*, 1943, 46, p. 105.

Genul *Pasteurella* Trevisan, 1885

Sinonime: *Cocobacillus* Gamaleia, 1888. *Eucystia* Enderlein, 1917.

CARACTERELE GENERALE ALE GENULUI ȘI ALE SPECIILOR SALE

Bacteriile genului *Pasteurella* sînt:

1. polimorfe, în general ovoide, măsurînd 0,2—0,3 microni lățime și pînă la 2 microni lungime;
2. gram negative și prezintă, mai ales în frotiurile făcute direct din materiale patologice — sînge, organe — o colorație bipolară;
3. în general, imobile;
4. nesporulate;
5. facultativ aerobe;
6. nu lichefiază gelatina, nu coagulează laptele și de obicei nu produc hemolizine;
7. de regulă patogene.

In acest gen există cinci specii și anume:

1. *Pasteurella animalium;*
2. *Pasteurella pestis;*
3. *Pasteurella tularensis;*
4. *Pasteurella pseudotuberculosis;*
5. *Pasteurella romanica.*

Speciile din genul *Pasteurella* se disting între ele prin caractere morfologice, culturale, biochimice și prin tipul de infecție pe care-l produc în condiții naturale. Dăm în tabelul 16 caracterele lor distinctive.

Tabelul 16

Caracterele distinctive ale celor cinci specii de Pasteurella

	Mobilitatea la 22°C	Fermentarea zaharozei	Producţia de indol	Lapte	Dezvoltarea pe medii cu bilă	Patogenitatea pentru şoareci	Patogenitatea naturală
Past. animalium	—	+	+	Neschimbat	—	+	Infecţii cu caracter septicemic la diverse specii animale, dar nu la om
Past. pestis..	—	—	—	„	+	+	Produce pesta la om. Infectează rozătoarele
Past. tularensis	—	—	?	?	?	—	Produce tularemia la om şi la numeroase specii de animale domestice sau sălbatice
Past. pseudotuberculosis	+	+	—	Alcalinizare	+	—	Produce o infecţie cu caracter nodular, necrotic, mai ales la rozătoare
Past. romanica	—	+	—	Se dezvoltă dar nu-l modifică		+	Se izolează din leziunile de bronhopneumonie de la viţei

Recurgînd la cercetarea caracterelor incluse în tabelul 16 speciile genului *Pasteurella* pot fi deosebite între ele.

Pasteurella animalium Stamatin et al., 1950

Sinonime: *Past. multocida* (Lehmann şi Neumann) Rosenbusch şi Merchant, 1939
Bacterium multocidum Lehmann şi Neumann, 1899.
Bacillus plurisepticus Kitt, 1903.
Bacterium septicaemiae haemorrhagicae, Lehmann şi Neumann 1899
Past. septica Topley şi Wilson, 1835.

Numele comun: Agentul pasteurelozelor (*Pasteurelosis*) sau pasteurela.

Infecţiile produse de pasteurele la animale au putut fi cu precizie separate de alte infecţii, cu evoluţia clinică şi leziuni asemănătoare, numai după identificarea agenţilor etiologici. Coze şi Feltz, în 1866, fac în direcţia identificării acestor agenţi, întîmplător de altfel, primele investigaţii. Autorii, inoculînd la iepuri diverse organe de origină animală, putrefiate, produc o infecţie cu caracter septicemic şi la autopsie găsesc în organe o bacterie mică, care, aşa cum s-a văzut mai tîrziu, era o pasteurelă. Davaine, reproducînd experienţa celor doi autori citaţi mai sus, obţine rezultate asemănătoare şi dă o descriere mai amănunţită a bacteriei pe care o găseşte în organele animalelor moarte. În aceleaşi condiţii experimentale, cum ne apare ca foarte natural astăzi, Pasteur nu mai izolează de la iepurii morţi o pasteurelă, ci vibrionul septic, iar Koch diverse bacterii piogene.

Germeni asemănători celor descrişi de Davaine şi găsiţi în septicemia experimentală a iepurelui au fost apoi identificaţi în infecţiile spontane ale diverselor specii animale. Astfel, Semmer (1878), Perroncito (1878), Toussaint (1879). Pasteur (1880) îi găsesc în infecţia găinilor, numită de Maillet (1836) holera găinilor, Bollinger (1878), Kitt (1887) într-o infecţie a bovinelor şi a unor rumegătoare sălbatice (căprioare, cerbi), Gaffky (1881) într-o septicemie spontană a iepurilor, Löffler (1886) într-o infecţie a porcilor, prezentînd frecvent leziuni pulmonare, Oreste Armani (1887) într-o boală a bivolilor numită „barbone", Magnusson (1912) îi găseşte la reni, Donatien la dromadere, Ionescu (1922) la vrabie, iar Riegler şi Iriminoiu (1923) la maimuţă. Caracterele bacteriilor izolate au fost descrise de aceşti diverşi cercetători. Toussaint cultivă, în 1879, agentul holerei păsărilor în urină neutralizată, iar Pasteur, în 1880, în bulion neutru de găină. Pasteur obţine prin conservarea timp de 1 lună, la 37°C, a unei culturi în bulion, o atenuare a bacteriei izolate de la găină şi foloseşte o asemenea bacterie la imunizarea păsărilor contra holerei, descoperind astfel primul vaccin bacterian.

Relaţiile dintre pasteurelele de diverse origini. Germenii mici, izolaţi din septicemii sau leziuni localizate de la diverse specii animale au fost consideraţi iniţial, ca specii bacteriene aparte, nefăcîndu-se, de exemplu, nici o legătură între agentul holerei păsărilor şi acel al septicemiei iepurilor sau al pneumoniei porcilor. Hueppe, în 1886, observă cel dintîi asemănările morfologice, culturale şi de patogenitate dintre germenii izolaţi din diferite infecţii animale, cum sînt holera găinilor, septicemia iepurilor, etc. Tot Hueppe (1886) constată, pe de altă parte, că leziunile provocate de aceşti germeni, la diverse specii animale, se apropie prin caracterul lor hemoragic. El numeşte pentru acest motiv, infecţiile caracterizate prin acest fel de leziuni, septicemii hemoragice. Termenul s-a dovedit, mai tîrziu, impropriu, deoarece, pe de o parte, în anumite forme ale infecţiei produse de *Pasteurella,* caracterul hemoragic al leziunilor poate lipsi, iar pe de altă parte, leziuni hemoragice asemănătoare se pot întîlni şi în alte infecţii. Lignières (1900), denumeşte infecţiile produse de pasteurele (nume dat de Trevisan (1887) acestor germeni pentru a onora numele lui Pasteur), pasteureloze, termen propriu şi care nu poate da loc la confuzii;

orice infecție în care se identifică ca agent etiologic o pasteurelă este o pasteureloză. Pentru a se evita confuziile, infecțiile produse de alte specii ale genului ca *Past. pestis, Past. tularensis* nu trebuie să se numească pasteureloze, acest termen urmînd a fi folosit numai pentru a desemna infecțiile provocate de *Past. animalium.*

Lignières cercetează îndeaproape agenții etiologici ai pasteurelozelor și în 1900 face o expunere amplă asupra lor. El distinge șapte specii de pasteurelă, după specia animală de la care provin sau după caracterul leziunilor și tipul de infecție pe care îl provoacă. În determinatorul Bergey din 1934 s-a adoptat acest principiu, speciile numindu-se: *Past. avicida, Past. muricida, Past. cuniculicida, Past. suilla, Past. boviseptica* etc. S-au mai descris și alte specii ca *Past. caviseptica* izolată de la cobai, *Past. oviseptica* izolată de la oaie. Acest punct de vedere după care *Pasteurella* proprie fiecărei specii animale constituie, în cadrul genului *Pasteurella,* o specie bacteriană distinctă, nu a fost unanim acceptat.

Dacă Lignières (1900), Wassermann și Ostertag (1902), Hughes (1930) etc. susțin multiplicitatea speciilor de pasteurele animale, alți cercetători (Nocard, 1903, Chamberland și Jouan, 1906 și alții) cred nejustificată această atitudine, și, îmbrățișînd un punct de vedere unicist, ei încadrează germenii izolați din cazurile de pasteureloză a animalelor într-o singură specie, căreia îi dau însă un nume care variază de la un autor la altul, ca: *Past. veterinaria* Basset, *Past. bipolaris* Balozet (1926), *Past. septica* Topléy și Wilson (1935) sau *Past. multocida* Rosenbusch și Merchant (1939), *Past. animalium* Stamatin et al., 1950 etc. Uniciștii afirmă că pasteurelele de diverse origini nu se pot distinge morfologic și cultural și nici chiar serologic și imunologic. Ei admit unele diferențe de patogenitate între diversele pasteurele, dar le socotesc datorite efortului de adaptare a germenului la organismul diverselor specii animale și nu le consideră atît de importante încît să justifice crearea unor specii distincte. Cel mult tulpinile izolate de la diverse specii animale ar putea constitui variante ale aceleiași specii și Balozet (1926), de exemplu, propune, pentru diversele pasteurele, următoarea nomenclatură: *Past. bipolaris var. aviseptica* pentru cea izolată de la găină sau *Past. bipolaris var. boviseptica* pentru cea izolată de la bou etc. Crearea acestor variante așa cum vom vedea imediat nu este însă justificată, cel puțin sub această formă.

Iriminoiu (1943) Roberts (1947) Schneider (1948), Stamatin, Stoenescu și Țaga (1950) etc. au reluat problema relațiilor biologice dintre pasteurelele animale de diverse origini, cercetînd, în scopul rezolvării ei, un număr important de tulpini. Studiul făcut de Stamatin și colaboratorii a privit, mai cu deosebire, activitatea patogenă pentru diversele specii animale și structura antigenică. Cercetările întreprinse, în aceste direcții, au arătat că pasteurelele provenind de la o specie animală au, în marea lor majoritate, o serie de caractere comune și distinctive în raport cu tulpinile provenind de la alte specii animale. Aceste caractere comune şi distinctive sînt evidente între pasteurelele de origine aviară şi cele provenind de la mamifere.

Stamatin şi colaboratorii, în urma acestor constatări, propun ca pasteurelele de origine animală să fie grupate într-o singură specie, pe care o numesc *Pasteurella animalium*. Acest punct de vedere unicist se sprijină, în primul rînd, pe proprietăţile morfologice, culturale şi biochimice care sînt comune tuturor tulpinilor de pasteurele izolate de la animale, în al doilea rînd pe faptul că toţi aceşti germeni, indiferent de origine, conţin, în soma lor, un acelaşi complex nucleoproteinic, care dezvoltă, la animalele de experienţă, procese toxice de acelaşi tip clinic şi anatomo-patologic. În cadrul speciei *Past. animalium* autorii disting două variante, şi anume:

a) varietas *avium*
b) varietas *mammalium*

Distincţia practică între cele două variante se face, în primul rînd, pe baza activităţii patogene pentru şoarece şi porumbel. O tulpină patogenă în doze mici, de 10^{-8} sau 10^{-9}, pentru şoarece sau iepure şi care nu omoară, în timpul verii, porumbelul în doza de 10^{-3} sau îl omoară după 2—3 zile sau mai mult aparţine tipului mamifer.

O tulpină care omoară şoarecele în aceeaşi doză ca şi porumbelul este o tulpină aviară.

Trebuie accentuat că o cultură nu poate fi socotită ca fiind de pasteurelă decît în cazul cînd proprietăţile sale morfologice, culturale, biochimice şi de patogenitate corespund celor indicate în tabelul 17. În literatura mai veche, cînd caracterele speciei *Past. animalium* nu erau precis definite, s-au făcut numeroase erori, socotindu-se ca pasteurele germeni care aveau numai unele din proprietăţile acestei specii, în general aspectul cocobacilar, coloraţia bipolară şi absenţa mobilităţii. Ori criteriile morfologice nu sînt suficiente pentru a preciza dacă cultura este sau nu de pasteurelă.

Cele două variante pot fi, pe baza criteriilor indicate în tabelul 17, diferenţiate cu mare precizie şi ele constituie o realitate de care practica trebuie să ţină seamă. Variantele au o suficientă stabilitate şi nu se transformă din una în alta. Iriminoiu (1943, 1945) a făcut cu o tulpină bovină 30 de treceri pe porumbel, fără ca tulpina respectivă să devină patogenă pentru găină.

Caractere morfologice. Bacterie ovoidă, măsurînd 0,7—1,25 microni. În organe, celulele bacteriene sînt izolate. În culturi, majoritatea elementelor sînt izolate, dar se pot întîlni filamente, precum şi lanţuri scurte. Ungureanu (1950) a descris o variantă la care germenii se grupează în lanţuri foarte lungi, asemănătoare celor întîlnite la streptococi.

Tabelul 17

Caracterele generale ale speciei Past. animalium şi ale celor două variante ale speciei

Pasteurella animalium		
1. Bacterie mică, Gram negativă, polimorfă, de obicei cu aspect cocobacilar 2. Aspect cultural variabil, în general o discretă tulburare a bulionului şi colonii mici pe agar 3. Fermentează glucoza şi zaharoza cu producţie de acid, dar nu de gaze 4. Nu fermentează lactoza 5. Nu lichefiază gelatina	I. Past. animalium var. avium	1. In condiţii naturale varianta este patogenă pentru păsări, mai rar pentru porci şi iepure, niciodată pentru bovine 2. In condiţii experimentale, tulpinile patogene omoară porumbelul şi şoarecele în doze sensibile egale 3. Activitatea patogenă este neutralizată de un ser specific de tip avium, dar nu de un ser de tip mammalium. 4. De regulă, fermentează arabinoza şi este inactivă faţă de xiloză
6. Nu modifică laptele 7. Nu produce hemolizine 8. Produce indol 9. Soma celulară conţine o toxină de natură nucleoproteidică 10. Patogenă pentru numeroase specii animale, dar nepatogenă sau puţin patogenă pentru om	II. Past. animalium var. mammalium	1. In condiţii naturale, varianta este patogenă pentru bovine, porci şi iepuri, dar nu pentru păsări 2. In condiţii experimentale, tulpinile patogene sînt foarte active pentru şoarece şi puţin active pentru porumbel. 3. Activitatea patogenă este neutralizată de un ser specific de tip mammalium, dar nu de un ser de tip avium 4. De regulă, fermentează xiloza şi este inactivă faţă de arabinoză

Gram negativă.

Se colorează cu toate culorile bazice de anilină.

Coloraţia bipolară se întîlneşte de regulă la germenii din organele animalelor infectate coloraţi cu soluţii de albastru de metilen sau soluţie Giemsa.

Germen imobil aciliat.

Asporogen.

Existenţa unei capsule este îndoelnică. In orice caz, această formaţie nu este pusă în evidenţă în mod curent, prin metodele obişnuite de colorare.

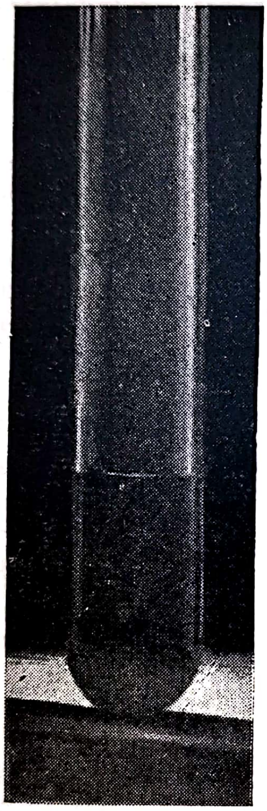


Fig. 26 — Pasteurella animalium

Aspect cultural pe agar înclinat

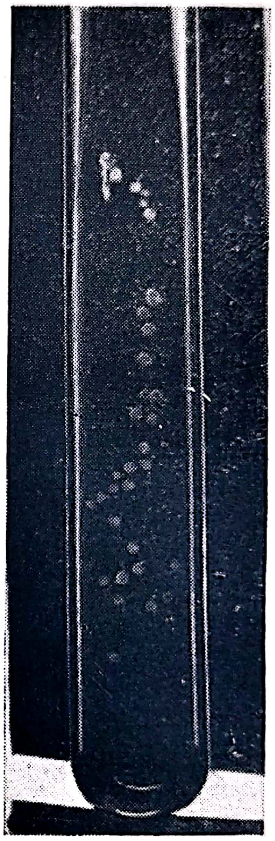


Fig. 27 — Pasteurella animalium

Cultură în bulion de 6 luni; se observă un depozit abundent

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă în apă peptonată, bulion, agar. Unele tulpini, izolate în special de la bovine, sînt serofile. Cultura apare la 37°C, după cîteva ore de la însămînţare. Concentraţia maximă este de 2—3 miliarde de germeni vii în 1 ml.

Temperatura optimă 37°C. Nu se dezvoltă la temperaturi mai mici de 20°C şi mai mari de 45°C.

pH-ul optim = 7,6—8,6

Nu creşte pe cartof.

Cultura în bulion se prezintă ca o uşoară tulburare uniformă, în general transparentă. Se constituie, prin învechire, un depozit care se uniformizează cu greutate, ceea ce dă un aspect caracteristic culturii. Acest aspect se întîlneşte mai rar la alte specii. Pe agar, bacteria formează, de regulă, colonii mici, abia vizibile, transparente, uneori uşor albăstrui, aderente de mediu. Se spală greu şi în general, nu se pot obţine suspensii din culturile de pe agar. Se întîlnesc frecvent variante care formează pe agar colonii mari, mucogene. Aceste variante sînt, de regulă, puţin patogene şi se izolează mai ales de la purtători cronici: porc, iepure, găină. Ţinînd seamă în special de aspectul cultural, Kruif (1921—1923) împarte pasteurelele izolate de la iepure în două tipuri şi anume: tipul D, care dă o cultură omogen tulbure în bulion, o cultură care difuzează deci uniform în mediu lichid, iar pe agar formează colonii opace, fluorescente, şi tipul G, care în bulion dă o cultură de tip granular, iar pe agar formează colonii translucide, albăstrui, cu o slabă fluorescenţă. Tipul D este, în general, după autor, mult mai patogen ca tipul G. Aceste tipuri s-au descris şi la pasteurelele de altă origine. Pe lîngă aceste două tipuri, Webster (1926) a descris un al treilea, M, care formează pe agar colonii mari, de aspect mucos. Aspectul mucos este datorit unei secreţii capsulare care, după Carter (1953), este constituită din acid hialuronic. Proprietăţile principale ale celor trei variante sînt rezumate în tabelul 18.

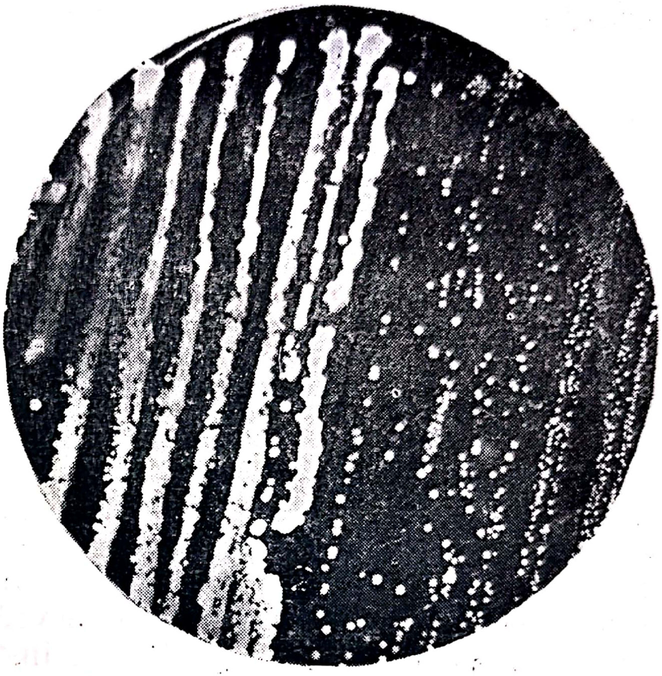


Fig. 28 — Pasteurella animalium (după Wynohradnyk)

Două tipuri de colonii: mucogene (*stînga*) şi nemucogene (*dreapta*)

Tabelul 18

Caracterele distinctive dintre cele trei tipuri culturale ale Pasteurelelor (după Carter, 1955)

Varianta	Aspectul pe agar	Aspectul culturii în bulion	Patogenitatea pentru şoarece
M. (mucoidă)	colonii mari, mucoase	Depozit mucos	Moderată
S (tip D)	colonii mici, discrete	difuz	Mare
R (tip G)	colonii mici, discrete	Autoaglutinare	Slabă

Relaţiile dintre aspectul cultural şi patogenitate nu corespund totdeauna indicaţiilor din tabel ; nu totdeauna o tulpină nemucogenă, şi care creşte difuz în bulion, este foarte virulentă iar alta care autoaglutinează este puţin patogenă. Se poate întîmpla şi invers.

Pasteurelele se pot cultiva şi pe medii sintetice. Astfel, se cultivă pe un mediu compus din : uree 1 %, glucoză 2%, clorură de sodiu 0,5%, fosfat disodic 0,5%, cisteină 0,2%. Cisteina este indispensabilă ; ea se poate înlocui cu glutation sau metionină. Dacă mediului i se adaogă triptofan, germenul îl atacă cu producţie de indol.

Proprietăţi biochimice. *Producţia de indol.* Pasteurelele descompun diverşi compuşi azotaţi. În cursul acestei descompuneri pot rezulta produse de dezasimilare, importante din punct de vedere al diagnosticului. Astfel, din dezintegrarea triptofanului ia naştere indolul. Apariţia indolului în culturile de pasteurelă este condiţionată de prezenţa în mediu a triptofanului şi de absenţa unor substanţe uşor asimilabile de către germen. Astfel, Manninger constată că în mediile cu glucoză nu se produce indol, chiar dacă ele conţin triptofan în cantităţi suficiente. Germenul nu recurge deci la această din urmă substanţă nutritivă atît timp cît găseşte substanţe care pare că pot fi mai uşor asimilabile. Aceste constatări explică, poate, afirmaţia făcută de Lignières că pasteurelele sînt neindologene. Numeroşi cercetători, după Lignières au dovedit însă că germenii ovoizi produc indol. La serviciile de diagnostic ale Institutului „Pasteur“ din Bucureşti s-au examinat din acest punct de vedere, mii de tulpini, izolate mai ales de la păsări, şi toate au fost găsite indologene. Cernăianu, de exemplu, examinînd 80 de tulpini aviare, a găsit că toate produceau indol. Unele tulpini nu produc indol decît după o cultivare de cîteva zile în bulion. Popovici a izolat de la un viţel o tulpină neindologenă, singura de acest fel, întîlnită în R.P.R. Producţia de indol apare deci ca un caracter aproape constant, uşor de pus în evidenţă şi care poate fi folosit în diagnosticul diferenţial, în special dintre pasteurele şi salmonele. Pentru punerea în evidenţă a indolului, pasteurelele trebuie să se cultive în apă peptonată fără zaharuri. În bulion, precum şi în apă peptonată cu zaharuri fermentescibile, indolul apare mai puţin constant. Reacţia pentru indol este pozitivă, în enorma majoritate a cazurilor, după o incubaţie de 24 de ore la 37°C. În cazul în care după acest interval de timp se obţine un rezultat negativ, reacţia se repetă după o incubaţie de 3—4 zile.

Fermentarea zaharurilor. Pasteurelele posedă fermenţi zaharolitici. Desfacerea zaharurilor sau polialcoolilor se face cu producţie de acid, dar nu de gaz. Germenii au o acţiune constantă asupra glucozei, zaharozei, galactozei şi levulozei. Lactoza nu este niciodată atacată, ceea ce diferenţiază pasteurelele de *Esch. coli communis*. La fel, pasteurelele sînt inactive faţă de ramnoză, dulcită, eritrită, adonită, inosită, salicină, inulină. Arabinoza, maltoza, xiloza, sorbita şi glicerina sînt inconstant fermentate. Cernăianu constată că din 80 de tulpini examinate 69 atacă arabinoza, 9 maltoza, 30 xiloza şi 22 glicerina. Alţi cercetători constată că majoritatea tulpinilor (96,88%) izolate de la păsări fermentează l-arabinoza, în timp ce cele mai multe tulpini (82,30%) provenind de la mamifere sînt inactive față de această substanță. Pestano și Rugai, (1943) care fac această constatare, propun împărțirea pasteurelelor în două grupe, după cum fermentează sau nu l-arabinoza. Grupa care fermentează l-arabinoza constituie, după autori, specia *Past. gamaleia,* iar cealaltă grupă, inactivă față de acest hidrocarbonat și care se găsește de regulă la mamifere, specia *Past. bollingeri.* Morch și Krogh Lund (1931), examinînd 150 de tulpini de pasteurele de diverse origini, propun să fie împărțite în șase grupe după modul lor de comportare față de diverse zaharuri.

Schneider (1948) cercetează în Ungaria 373 de tulpini de pasteurelă, de diverse origini, și le împarte, pe baza caracterelor biochimice și de patogenitate, în opt grupe. Valoarea practică a acestor grupe este discutabilă. În plus, germenii din unele grupe, cum sînt cei din grupele VII și VIII, care nu produc indol, nu pot fi clasați, în mod sigur, ca pasteurele. Dăm în tabelul 19, după Schneider, caracteristicile fiecăreia din cele opt grupe create de autor.

Tabelul 19

Grupa	Originea	Patogenitatea pentru șoarece	Producția de indol	Activitatea fermentativă		
				Arabinoza	Xiloza	Sorbita
I	De la toate speciile de animale receptive	+++	+	+	—	—
II	În special păsări și porci	+++	+	+	—	+
III	Bovine	+++	+	—	+	+
IV	Porc	—	+	—	±	+
V	Păsări, porci, miei	—	+	—	—	+
VI	Porci	+++	+	—		—
VII	Pui de găină		Nu s-a examinat			
VIII	Purcei	—	—	—	—	—

Proprietățile biochimice ale tulpinilor de pasteurelă se conservă timp îndelungat. Schneider a examinat, la diverse intervale, 2 ani sau mai mult, tulpini aparținînd grupelor create de el, constatînd fixitatea proprietăților lor fermentative.

Stamatin și colaboratorii (1950) constată că tulpinile de tip *avium,* fermentează de regulă arabinoza, iar cele de tip *mammalium,* xiloza. Față de sorbită, tulpinile cercetate de autori s-au comportat astfel : au fermentat-o toate tulpinile izolate de la bou, 6 tulpini din 7 izolate de la iepure, 42 din 48 izolate de la porc, 15 din 23 izolate de la păsări.

Dăm sub formă de tabel principalele proprietăți fermentative distinctive dintre pasteurele, salmonele și colibacili.

Tabelul 20

Germenul	Producţia de indol	Fermentarea zaharurilor		
		Glucoza	Lactoza	Zaharoza
Pasteurella	+	+	—	+
Salmonella	—	+	—	—
Colibacil	+	+	+	—

Alte proprietăţi. Pasteurelele nu hemolizează globulele roşii, nu lichefiază gelatina, nu coagulează laptele. Reduc albastrul de metelin precum şi nitraţii în nitriţi produc cantităţi reduse sau nu produc de loc NH_3 şi SH_2. Produc fenol.

În culturi, catalaza este prezentă.

Structura antigenică. Diverşi cercetători care au încercat să diferenţieze pasteurelele cu ajutorul reacţiilor serologice sau al imunizării încrucişate au obţinut rezultate, în general, contradictorii. Tulpinile de pasteurelă, de diverse origini, nu se disting net între ele nici prin seroaglutinare (Balozet, 1926) nici prin reacţia de fixare de complement (Stamatin şi col., 1950).

Amintim că unii cercetători şi printre primii Jones (1921) au ajuns la rezultate contrarii. Jones, de exemplu, recurgînd la seroaglutinare şi la examenul unor proprietăţi biochimice împarte pasteurelele în trei grupe.

1. Fermentează dextroza, lactoza, zaharoza, maltoza şi manita, nu produc indol, rezistă la bilă, sînt hemolitice şi au capsulă.

2. Nu fermentează lactoza, maltoza şi manita, dar indolul, se dizolvă în bilă şi nu sînt hemolitice.

3. Fermentează manita şi sînt insolubile în bilă. Seroaglutinarea confirmă existenţa acestor trei grupe. Little şi Lyon (1943) confirmă existenţa celor trei grupe astfel cum sînt definite de Jones şi prin proba seroneutralizării pe şoareci. Este de remarcat însă în ceea ce priveşte în special prima grupă a lui Jones, că ea nu este constituită din pasteurele, aşa cum sînt definiţi astăzi germenii acestei specii de majoritatea cercetătorilor.

Cercetările făcute în această privinţă de Stamatin şi colaboratorii (1950), au arătat că, în general, pasteurelele prezintă o enormă variabilitate în ceea ce priveşte structura lor antigenică, ceea ce face ca reacţiile serologice să nu poată fi utilizate în scopul diferenţierii tulpinilor, în raport cu originea lor. Serul preparat pe oaie cu o tulpină aviară, de exemplu, nu aglutinează toate tulpinile de la pasăre la un titru sensibil egal cu acela la care aglutinează tulpina folosită la prepararea sa. Mai mult încă, se pot găsi tulpini aviare sau de iepure care sînt aglutinate foarte slab chiar de serurile omoloage. Serul preparat cu o asemenea tulpină este la rîndul său slab aglutinat, chiar faţă de propria tulpină. Se întîmplă însă ca unele tulpini care aglutinează slab să producă la oaie anticorpi aglutinanţi foarte activi pentru alte tulpini, dar nu pentru ea însăşi. Ele produc aglutinine, dar nu sînt aglutinate. Probabil că aceste tulpini au un antigen de suprafață care maschează aglutinogenul, care împiedică deci in vitro cuplarea aglutininelor cu aglutinogenul.

Cercetările diverșilor experimentatori referitoare la imunitatea încrucișată au dat rezultate contradictorii. Kitt (1905), Chamberland și Jouan (1906) reușesc, primul să imunizeze iepurele, iar cel din urmă găina, cu tulpini de porc, față de o tulpină de pasăre. Chamberland și Jouan constată, în același sens, că un ser preparat cu o tulpină de porc este protector față de tulpinile de pasăre. Pe baza acestor date, ei ajung la concluzia identității tuturor pasteurelelor. Wassermann și Ostertag (1902) dimpotrivă constată, o diversitate remarcabilă între tulpinile de origini deosebite, în ceea ce privește activitatea lor imunizantă.

Aceste rezultate contradictorii pot fi perfect explicate astăzi, cînd știm pe de o parte, că de la porc se pot izola tulpini de tip aviar, iar pe de altă parte că multe tulpini bovine au antigenii comuni cu tulpinile aviare și invers. Roberts mai tîrziu (1947) ocupîndu-se de această problemă distinge trei tipuri pe baza examenului activității protectoare a serurilor preparate cu tulpini de diverse origini. Schneider (1948), în Ungaria, distinge prin aceeași metodă două grupe : o grupă aviară, conținînd tulpinile care nu sînt neutralizate de un ser preparat cu o tulpină bovină și o grupă bovină, compusă din tulpini bovine care nu sînt neutralizate de un ser preparat cu germeni provenind de la pasăre.

Stamatin și colaboratorii (1950) au reluat această problemă, preparînd pe oaie, cu tulpini de diverse origini, seruri protectoare. S-au preparat în acest fel :

1. două seruri imune cu două tulpini aviare;
2. un ser imun cu o tulpină de porc;
3. un ser imun cu o tulpină de bou;
4. un ser imun cu o tulpină de iepure.

Fiecare ser a fost cercetat din punct de vedere al valorii sale preventive față de tulpini provenind de la : 1) pasăre ; 2) bou ; 3) porc și 4) iepure. Rezultatele au fost următoarele :

1. Serul preparat cu tulpini de pasăre este activ față de toate tulpinile izolate de la pasăre, precum și față de tulpinile izolate de la porc sau iepure, dar avînd caractere aviare. Aceste date confirmă încă o dată independența patogenică și imunizantă a tipului aviar în cadrul speciei *Pasteurella animalium.*

2. Serurile preparate cu tulpini de tip mamifer, provenind de la bou, porc sau iepure, sînt inactive față de tulpinile de tip aviar, dar protejează șoarecele față de tulpini de tip mamifer provenind de la bou, porc sau iepure. Un ser preparat cu o tulpină de mamifer este activ, în consecință, față de toate pasteurelele provenind de la mamifere și aparținînd tipului *mammalium.*

Unele tulpini, așa cum reiese din cercetările făcute de Stamatin, Bica Popii și Răducănescu (1955), se abat într-o oarecare măsură de la această regulă. Astfel, există tulpini de tip *mammalium* ca și de tip *avium* care inoculate la oaie produc anticorpi activi nu numai față de tipul omolog, dar într-o oarecare măsură și față de tulpinile tipului heterolog.

Activitatea neutralizantă faţă de tulpinile tipului heterolog este, în general, mai puţin accentuată în comparaţie cu aceea exercitată faţă de tipul omolog. Există deci tulpini cu o structură antigenică mixtă. Este de semnalat că asemenea tulpini nu sînt neutralizate de serul tulpinilor de tip heterolog. Astfel, tulpina *mammalium* 163 produce un ser care neutralizează unele tulpini aviare în general pe cele avînd o mai redusă putere patogenă, dar ea nu este neutralizată de un ser preparat cu una din asemenea tulpini aviare.

Problema tipizării tulpinilor de pasteurelă a fost cercetată în ultimul timp prin folosirea unor noi mijloace de investigaţie.

Carter (1952) arată în această privinţă că pasteurelele posedă un polizaharid capsular şi că, folosind în special, reactivi de seroprecipitare între acest antigen şi diverse seruri antipasteurelice se pot identifica patru tipuri serologice, numite de autor A, B, C, şi D. Prin reacţia de hemaglutinare (hematii de om din grupa O, adsorbite cu polizaharidul capsular şi puse în contact cu ser imun), Carter (1955) confirmă existenţa acestor tipuri serologice. Valoarea practică a acestui fel de grupare pare a fi redusă, dat fiindcă ea nu permite distincţia tulpinilor patogenic diferite. Astfel, în grupa A, de exemplu, se găsesc atît tulpini izolate de la păsări, cît şi de la bovine, tulpini care sînt diferite între ele, în special din punct de vedere al capacităţii patogene.

Influenţa factorilor fizici şi chimici. Rezistenţa pasteurelelor faţă de diverşi factori fizici şi chimici este redusă. Temperatura de 55°C le omoară sigur în 45 de minute. La 63°C sînt distruse în $^{1}/_{4}$ oră (Hadley, 1912). Razele solare sînt extrem de nocive şi ele distrug pasteurelele din materiile fecale sau din sînge în 2—3 zile. Pasteurelele uscate pe fire de mătase dispar în 2 zile la lumină şi în 3 zile la întuneric. În sînge sau materii fecale uscate ele rezistă 6—10 zile. Rezistă cîteva săptămîni sau chiar mai mult în cadavrele intrate în putrefacţie. Unii autori afirmă că pasteurelele se pot înmulţi în cadavre în primele 6 ore după moarte; de obicei numărul lor rămîne constant pînă la 48 de ore după moarte, apoi începe să scadă.

Pasteurelele se conservă un timp îndelungat, pînă la 1 an, în pipete cu sînge închise la flacără şi menţinute la rece şi la întuneric. Sub formă uscată, germenii îşi păstrează viabilitatea pînă la 3 luni. În medii lichide, unele tulpini de *Pasteurella,* dar nu toate, se pot conserva pînă la 1 an, dacă tuburile sînt ţinute la rece (temperatura camerei şi nu gheţar) şi la adăpost de lumină. Pe medii solide, *Pasteurella* rămîne viabilă un timp mult mai scurt, 2—3 săptămîni. De obicei tulpinile se conservă pe medii lichide, la întuneric şi la temperatura camerei. Ele trebuie transplantate din 30 în 30 de zile.

Antisepticele obişnuite sînt foarte active: sublimatul 0,1%, laptele de var 5%, soda caustică 1%, sulfatul de cupru 3%, creolina 0,5% etc. omoară pasteurelele în cîteva minute; acidul fenic 1% le omoară în 15 minute, dar concentraţiile de 0,5% nu sînt active nici chiar după 4 ore (Hadley, 1912). Formolul, în concentraţie de 0,2%, distruge o cultură de bulion în 40 de minute. Bila acţionează asupra acestor germeni ca un bactericid puternic (Cernăianu); adăugată unei culturi în proporţie de 25—30% ea o distruge complet. Substanţele colorante, ca albastru de metilen în diluţie de 1/300 000, violetul de genţiana 1/100 000 sînt bacteriostatice. Sulfamidele (sulfatiazolul), în concentraţii relativ mici, 1/100 000, împiedică, aşa cum reiese clar din tabelul 21 înmulţirea germenilor în bulion, dacă însămînţarea nu a fost prea abundentă. Astfel, dacă în 10 ml de bulion, care conţine sulfatiazol în concentraţie de 1—50 mg%, se însămînţează mai mult de 100 000 de germeni vii, aceştia se dezvoltă ca şi cum substanţa bactericidă ar fi absentă. Dacă, dimpotrivă, se însămînţează cantităţi mai reduse, germenii nu se înmulţesc. În aceste condiţii ei par a fi omorîţi, căci transplantările din aceste medii sînt constant sterile.

Tabelul 21

Numărul tubului	Concentrația bulionului în sulfatiazol	Cantitatea de cultură însămînțată	Rezultatul însămînțării	
			după 24 ore	după 48 ore
1	0,055%	10^{-1}	+	+
2	,,	10^{-2}	+	+
3	,,	10^{-3}	+	+
4	,,	10^{-4}	—	+
5	,,	10^{-5}	—	—
6	,,	10^{-6}	—	—
7	0,0055%	10^{-1}	+	+
9	,,	10^{-2}	+	+
9	,,	10^{-3}	+	+
10	,,	10^{-4}	+	+
11	,,	10^{-5}	—	—
12	,,	10^{-6}	—	—
13	Martor	10^{-6}	+	+
14	,,	10^{-7}	+	+
15	,,	10^{-8}	+	+
16	,,	10^{-9}	+	+
17	,,	10^{-10}	—	—

Activitatea antipasteurelică a penicilinei, in vitro, a fost cercetată de Stamatin şi Vlădeanu (1948). Autorii constată că însămînţarea pasteurelelor în medii cu penicilină nu este urmată de o dezvoltare dacă antibioticul se găseşte într-o concentraţie suficient de mare. Astfel, pasteurelele de origină aviară, bovină sau porcină, însămînţate în doză de aproximativ 100 milioane de germeni vii în 10 ml de bulion, cu pH = 7,6, nu se dezvoltă dacă în acest mediu de cultură s-au adăugat, în prealabil, 500 U.I. de penicilină. În aceste condiţii, cele mai multe dintre tulpinile examinate nu se înmulţesc într-o concentraţie de penicilină de 10 ori mai mică (50 U.I. la 10 ml de bulion). La rezultate similare ajunge şi Schmidt (1955). Penicilina, în concentraţie de 5 U.I. la 10 ml de bulion nu împiedică, în general, înmulţirea pasteurelelor. Acestea se divid în primele 24 de ore şi mediul devine, după acest interval de timp, uşor opalescent sau, de cele mai multe ori rămîne limpede sau prezintă unele flocoane de cultură în suspensie. O singură unitate de penicilină, în condiţiile descrise mai sus nu influenţează în nici un fel culturile de pasteurele.

Penicilina adăugată într-o concentraţie mare unei culturi de *Pasteurella* deja dezvoltată provoacă modificări morfologice şi la sfîrşit liza germenilor. Astfel, adăugînd 5 000 U.I. de penicilină în 100 ml de cultură în bulion, incubată timp de 3—4 ore la 37°C (turbiditatea mediului, după acest interval, este destul de aparentă dacă însămînţarea a fost abundentă), se obţine clarificarea culturii. Liza se produce în 3—5 zile şi ea este precedată de importante modificări privind morfologia germenilor. Aceştia, chiar după 6 ore de contact cu penicilina şi atunci cînd cultura cu penicilina are aceeaşi densitate ca şi cultura martoră, sînt mari (1—2 microni), globuloşi şi se colorează mai bine cu fucsină decît germenii normali. Printre formele bacilare se întîlnesc de asemenea forme rotunde, avînd dimensiunile cocilor mari şi colorîndu-se puternic cu fucsină. 24 de ore după ce penicilina a fost adăugată mediului, formele bacilare sînt aproape total absente; în frotiuri predomină formele rotunde. Dimensiunile acestora sînt variabile, 2—3 microni. Afinitatea lor pentru fucsină variază de asemenea în limite largi. După acest interval de timp, cultura are aceeaşi turbiditate ca o cultură normală. A doua şi a treia zi cultura începe să se clarifice şi a patra zi se observă în bulion numai unele flocoane; acestea plutesc în mediu, sînt de consistenţă mucoasă şi alcătuite din forme mari, rotunde. Aceste flocoane se dezintegrează aproape în întregime în zilele următoare. După 2 zile de contact cu penicilina reînsămînţările sînt sterile. Dacă penicilina este adăugată culturilor mai vechi de 3—4 zile, liza germenilor se produce şi în acest caz, dar mai lent şi nu complet. Celelalte antibiotice (cloramfenicolul, teramicina, dihidrostreptomicina, aureomicina sînt, după Schmidt (1955), mai puţin active ca penicilina.

Ecologie. Gaffky (1881), Hueppe (1886), Kitt (1888) şi alţii admiteau că *Pasteurella* este un saprofit al solului şi că pasteurelozele sînt deci infecţii telurice. Această concepţie se sprijină pe cercetări experimentale puţin riguroase făcute într-o perioadă cînd pasteurelele nu erau încă bine definite ca specie şi cînd nu se cunoştea nici prezenţa acestor germeni în organismele normale şi nici patogenia infecţiei. Inocularea unui produs natural — apă, sol — la iepure poate trezi, aşa cum se ştie bine astăzi, o infecţie latentă, animalul murind de pasteureloză, fără ca în produsul inoculat să fi existat germenul respectiv. Cercetările ulterioare au arătat, în primul rînd, că *Pasteurella* este un germen puţin rezistent faţă de acţiunea factorilor de mediu şi că deci teoria existenţei sale în sol nu poate corespunde realităţii. Cu privre la redusa rezistenţă a pasteurelelor în mediu cităm lucrările recente (1954) făcute de Stamatin şi Gogoaşă T. şi V., din care rezultă că aceşti germeni se distrug într-un timp relativ scurt, în soluri în prealabil sterilizate. Chiar în aceste condiţii în care s-a eliminat concurenţa cu germenii saprofiţi, pasteurelele nu rezistă mai mult de 18 zile la temperatura camerei şi de 50 de zile la rece (4°C). Solurile acide distrug cel mai repede germenii, în timp ce în solurile neutre mai uşor alcaline, bogate în humus, ele se conservă un timp mai îndelungat. În condiţii naturale, aşa cum presupunea Gamaleia încă din 1888, unde pe lîngă flora normală a solului intervine şi activitatea batericidă a luminii solare, durata de conservare este desigur mult mai mică. Rotov (1953) admite totuşi că în zonele umede, unde solul este umbrit de ierburi înalte, pasteurelele s-ar putea conserva un timp oarecare, solul putînd constitui, în aceste condiţii un izvor de infecţie pentru animale. Pare definitiv stabilit că mediile naturale — apa, solul — nu pot oferi condiţii în care pasteurelele să se poată multiplica, ci cel mult un mediu în care ele s-ar putea conserva un timp variabil în raport cu condiţiile respective. În aceste condiţii şi dată fiind răspîndirea infecţiilor pasteurelice şi persistenţa lor îndelungată în anumite regiuni, trebuie să admitem că pasteurelele se conservă în altă parte decît în sol sau apă. Cercetări numeroase făcute în această direcţie, au arătat într-adevăr, că pasteurelele îşi au sediul obişnuit pe şi în organismul animal. Această opinie a fost exprimată pentru prima oară de Gamaleia (1888) care într-adevăr afirmă că *Pasteurella* este un parazit al intestinului normal de pasăre, ceea ce însă nu s-a dovedit exact. Pasteurelele nu-şi au sediul obişnuit în intestin, ci pe căile anterioare respiratorii şi digestive. Manninger (1934), Cernăianu (1942) au arătat într-adevăr că ele pot fi izolate din căile respiratorii anterioare de la păsări, dar nu din pămînt sau apă. Recent, Ungureanu şi Gogoaşă (1952) au reuşit de asemenea să izoleze pasteurelele din căile respiratorii anterioare ale păsărilor provenind din focare cronice de holeră. Procentul de păsări găsite purtătoare, în aceste focare, este uneori redus 1—2%, alteori mare 10—20% sau mai mult. Gogoaşă (1956), într-un focar de holeră cu caracter enzootic, la raţe, găseşte *Pasteurella* la un procent de 46,6% din păsări. Nu socotim însă că procentul redus corespunde totdeauna realităţii. Este probabil că în realitate sînt mai multe păsări purtătoare, dar mijloacele imperfecte de care dispunem nu ne permit să le identificăm pe toate. După Ungureanu şi Gogoaşă (1952) porcii sînt purtători într-un procent în general mult mai mare (18%) ca păsările. Numărul purtătorilor porcini nu pare a fi influenţat de existenţa unor forme clinice de pasteureloză în crescătorie. În ceea ce priveşte bovinele, numărul purtătorilor variază în raport cu situaţia epizootologică a animalelor cercetate. Casnev (1951) a găsit, de exemplu, că în crescătoriile indemne de pasteureloză procentul purtătorilor este de 0,5%, dar el este de 28% printre animalele care au trecut prin boală. Ovinele sînt rar purtătoare de *Pasteurella*. Aceste date arată că purtătorii animali de pasteurele sînt relativ destul de frecvenţi şi că ei constituie izvoarele principale de infecţie. Pasteureloza este deci o boală de purtător şi nu o infecţie telurică în sensul în care este tetanosul, antraxul etc.

PATOGENITATEA

Elementele patogenităţii. Patogenitatea pasteurelelor este condiţionată, în primul rînd, de capacitatea lor de a se înmulţi in vivo, iar în al doilea rînd de toxicitatea unor componenţi ai celulei bacteriene. In vivo înmulţirea este însoţită de eliminare de toxine, care produce leziuni importante în marile organe şi ţesuturi — ficat, pulmoni, muşchi striaţi — precum şi tulburări ale sistemului circulator. Cele două funcţiuni de patogenitate ale germenului nu sînt operante una fără alta. Toxicitatea nu s-ar putea exercita, în condiţii naturale, dacă germenul ar fi lipsit de virulenţă. Virulenţa, la rîndul ei, nu ar fi atît de nocivă în absenţa componentului toxic celular.

Toxicitatea. Pasteurelele sînt germeni virulenţi prin excelenţă ; inoculate la animale sensibile, pe căi convenabile, ele se înmulţesc la locul de inoculare şi apoi în sînge, producînd septicemii ; numărul germenilor în sînge sau organe este imens. În focarele pulmonare cronice acest număr este încă şi mai mare, ceea ce dovedeşte de asemenea capacitatea pasteurelelor de a se înmulţi în ţesuturile vii, deci virulenţa lor. Unii cercetători admit însă că invazia germenilor în ţesuturi este precedată sau însoţită de unele secreţii toxice. Se afirmă, de exemplu, că pasteurelele, ca şi alţi germeni virulenţi, secretă în cursul infecţiei substanţe agresive care ar paraliza sistemul defensiv al gazdei şi în special activitatea fagocitelor. Se constată astfel de unii autori, că exudatul peritoneal obţinut de la cobai sau de la iepuri infectaţi experimental, sterilizat prin încălzire la 44°C, măreşte activitatea patogenă a pasteurelor şi transformă o doză de pasteurelă nemortală pentru cobai într-una mortală (Veil, 1905).

Intervenţia unei toxine în procesul morbid rezultă şi din cercetările care arată că în culturile de pasteurelă se găsesc unii principii toxici. Pasteur (1880), de exemplu, constată printre primii, că dacă filtratul a 120 ml de cultură de pasteurelă este evaporat la rece, iar depozitul este luat în 2 ml de ser fiziologic şi inoculat ca atare la găină, el produce dispnee şi somnolenţă. Aceste simptome apar la 15 minute după injecţie şi dispar în cîteva ore. Rezultate asemănătoare au fost obţinute de alţi cercetători, în urma injectării, la porumbel sau găină, a unei cantităţi de 30—80 ml de filtrat. Filtratul culturilor de pasteurelă, vechi de 2 luni, este, după Voges (1896) toxic pentru animalele de experienţă. Popovici observă că culturile formolate 0,2%, ţinute 4 ore la termostat, şi injectate apoi imediat pe cale intravenoasă, omoară porumbelul ca şi cobaii tineri ; la autopsie se observă congestia organelor interne, dar ele nu conţin germeni cultivabili, ceea ce înseamnă că moartea se datoreşte intervenţiei unui produs toxic. Dezintegrînd bacteriile la temperatura aerului lichid, Mac Fadyen (1907) a putut obţine o endotoxină pasteurelică, care, pe cale intraperitoneală sau intravenoasă, omoară iepurele, cobaiul şi şoarecele în cîteva ore. Corpii microbieni omorîţi prin eter s-au arătat, în unele experienţe, toxici pentru cobai. Injectaţi pe cale subcutană, în doză masivă (germenii recoltaţi de pe suprafaţa a două tuburi de agar), ei produc un edem local care durează 4 zile, iar pe cale intraperitoneală produc caşexia şi moartea animalului în 18—22 de zile.

Levaditi a izolat din culturile de pasteurelă substanţe toxice care au caracterele endotoxinelor. Pirosky (1938) izolează, după metoda Boivin şi Mesrobeanu, din unele variante de pasteurelă aviară, un antigen glucido-lipidic asemănător cu antigenii identificaţi, în general, în soma bacteriilor Gram negative. Produsul izolat omoară şoarecele pe cale intraperitoneală, în 24 de ore, cu o doză de 0,1 mg. El este dotat cu proprietăţi antigenice ; injectat la iepure, pe cale intravenoasă, în doze crescînde (0,05, 0,1, 0,2, 0,5 şi 1 mg), provoacă apariţia anticorpilor. Aceştia pot neutraliza acţiunea toxică a antigenului glucido-lipidic. Antigenul, injectat în repetate rînduri şi în doze submortale conferă şoarecelui un grad redus de rezistenţă faţă de produsul injectat, precum şi faţă de o tulpină de pasteurelă aviară foarte puţin virulentă (nu omoară şoarecele decît dacă germenii sînt înglobaţi în mucină). Pirosky a mai izolat, în plus, şi un antigen identic serologic şi chimic (este precipitat de acetatul de uranil) cu antigenul Vi care, dealtfel a mai fost găsit şi la alte bacterii Gram negative şi în primul rînd la bacilii tifici. Antigenul glucido-lipidic pare a fi prezent în soma germenilor cultivaţi pe agar, dar absent în soma celor cultivaţi în bulion.

Maxutova, în U.R.S.S., cultivînd pasteurele aviare, a căror virulenţă a fost exaltată prin treceri pe cobai, în bulion conţinînd 1,5% PO_4Na_2H, obţine filtrate care omoară cobaiul în 18—24 de ore (doză injectată 3—5 ml) Isaeva, tot în U.R.S.S., obţine o toxină activă din variantele mucoase de pasteurele. Toxina preparată de această cercetătoare omoară porumbelul în doză de 0,5 ml pe cale intravenoasă. Revo socoteşte că proprietăţile toxice ale pasteurelelor sînt reprezentate prin antigenul glucido-lipidic izolat şi studiat de Pirosky (1938).

Stamatin, Şerbănescu, Vlădeanu şi Stoenescu au reluat (1949) problema toxinei pasteurelice, recurgînd la unele metode noi de extracţie şi, mai ales, de cercetare a activităţii patogene. Autorii folosesc în primul rînd, lizatele penicilinice, pe care le obţin din culturi foarte tinere, 3—4 ore, prin adăugarea unei cantităţi importante de antibiotic, 5 000 U.I. pentru 100 ml de cultură. Liza şi sterilizarea unei asemeni culturi se produc în cîteva zile. La iepure, lizatele injectate în doză de 0,5—1 ml, pe cale intravenoasă, produc de regulă, moartea animalului în 30 de minute pînă la 1—3 ore sau mai mult. Simptomele care preced moartea sînt variabile. În cele mai multe cazuri primele tulburări sînt din partea aparatului respirator şi constau dintr-o accelerare a respiraţiei. Simptomul respirator se accentuează şi, în scurt timp, respiraţia devenind din ce în ce mai penibilă animalul moare în 1—2 ore. În alte cazuri, tulburările respiratorii nu sînt evidente. Iepurele stă liniştit în cuşcă, dar, la un moment dat, el sare în sus, ţipă, se rostogoleşte pe o parte şi pe alta şi moare prin sincopă respiratorie. Cordul continuă să mai bată încă 1—2 minute după încetarea respiraţiei. Manifestările de acest fel, care amintesc şocul anafilactic, sînt produse de toxinele foarte active, care omoară animalul în 30—40 de minute.

În alte cazuri, animalul prezintă tulburări respiratorii, dar deşi aceste simptome sînt foarte grave, el nu moare asfixiat; dispneea dispare după 1—2 ore şi este urmată de o apatie, apoi de comă şi moartea animalului survine în 8—24 de ore sau mai mult.

La toţi iepurii se produce, scurt timp după administrarea toxinei, 20—30 de minute, o leucopenie gravă. Numărul elementelor albe în sîngele periferic se reduce de la 10 000 la 2 000 sau chiar la 1 000 de elemente.

Leucopenia, în cazul cînd animalul rezistă, este urmată de o leucocitoză însemnată. Formula leucocitară, aşa cum se vede în tabelul 22 arată că în faza leucopenică se produce o scădere atît a numărului de polinucleare, cît și a numărului limfocitelor, iar în faza de leucocitoză se constată o creștere a numărului de polinucleare, dar numărul limfocitelor rămîne același.

Lizatul produce la unele animale tulburări digestive, care constau din emisiuni frecvente de fecale diareice. În plus, se observă la animalele intoxicate urinarea frecventă și abundentă. Practic, lizatul este inactiv pentru iepure cînd este inoculat pe alte căi decît cea intravenoasă.

Tabelul 22

Variația numărului de leucocite și a raporturilor dintre diverse elemente albe la un iepure injectat intravenos cu 1 ml de toxină pasteurelică

Timpul de examinare	Numărul total al leucocitelor pe 1 mm	Limfocite	Pseudo-eozinofile	Monocite	Eozinofile	Bazofile
Înainte de injecție..	12 500	6 625 (53%)	4 625 (37%)	875 (7%)	38 (0,3%)	22 (0,17%)
După 1 oră	4 200	1 806 (43%)	2 142 (51%)	84 (2%)	126 (3%)	42 (1%)
După 3 ore	4 000	—	—	—	—	—
După 9 ore	13 000	—	—	—	—	—
După 24 ore	18 000	1 353 (7,4%)	16 008 (87%)	368 (2%)	165 (0,9%)	368 (2%)

Autorii au obținut aceleași rezultate și cu filtratele de culturi în bulion, vechi de cîteva zile. Filtratele culturilor foarte tinere, 24 de ore sau mai puțin, sînt, de regulă, inactive; în general, cu cît cultura este mai veche, cu atît filtratul este mai activ.

Autorii au cercetat activitatea toxinei și la alte specii animale, obținînd, la unele din ele, rezultate similare cu cele de la iepure.

Boul este sensibil. 5 ml de filtrat administrat pe cale intravenoasă produc, la viței, tulburări respiratorii și digestive grave însoțite de leucopenie. Simptomele respiratorii dispar în cîteva ore și leucopenia este urmată de leucocitoză însemnată, 50 000—100 000 sau chiar mai multe elemente albe pe 1 mm^3 de sînge. Diareea apare după 1—2 ore de la injectarea produsului și continuă în tot cursul zilei, dar dispare a doua zi.

Oaia este de asemenea foarte sensibilă. Dozele reduse de toxină — 0,5—1 ml — injectate pe cale intravenoasă produc o stare de torpoare, dispnee, febră, 41°C sau mai mult, și diaree. Animalul însă se remite în cîteva ore. Leucopenia însoțește constant simptomele clinice și este urmată de o leucocitoză uneori masivă. Dozele mari — 5 ml — omoară animalul în mai puțin de 24 de ore.

Cîinele, în special animalul tînăr, sub 6 luni, este sensibil la toxina pasteurelică și o doză convenabilă — 5—10 ml de filtrat activ — îl omoară în 4—48 de ore. Injectarea toxinei este urmată imediat de o stare de nelinişte şi apoi de somnolenţă. Animalul stă culcat. În această stare apar tulburările intestinale. Animalul prezintă întîi contracţii ale pereţilor abdominali şi după 30—40 de minute de la injectarea produsului se instalează diareea. La început materiile fecale sînt normale, apoi devin difluente şi în cele din urmă sanguinolente. Diareea continuă pînă la moartea animalului. Leucopenia este trecătoare şi prezentă la 1—2 ore după injecţie. Ea este urmată de o leucocitoză puţin însemnată. Numărul elementelor albe se dublează sau cel mult se triplează.

Şoarecele. Are o sensibilitate moderată. Unele probe de toxină, injectate pe cale intraperitoneală, îl omoară în cîteva ore, altele, deşi toxice pentru iepure, sînt inofensive pentru el.

Găina, porumbelul şi cobaiul suportă doze considerabile de toxină fără a prezenta tulburări manifeste. La găină se observă doar o somnolenţă trecătoare. Constatarea că găina şi porumbelul sînt insensibili faţă de toxină pare paradoxală, dată fiind sensibilitatea acestor specii faţă de infecţia pasteurelică. Faptul se explică poate prin structura morfologică particulară şi diferită a păsărilor în raport cu mamiferele.

Leziunile produse de toxină variază de la o specie la alta. La oaie şi mai ales la cîine predomină leziunile hemoragice, la iepure cele congestive. La cîine se observă hemoragii întinse pe seroasa peritoneală şi pericardică, precum şi pe mucoasa intestinului subţire. Atît la oaie, cît şi la cîine se găsesc în pulmon infarcte hemoragice. Conţinutul intestinal şi mucoasa intestinală sînt hemoragice.

La iepurii morţi, scurt timp după infecţie, se constată o anemie a pulmonului şi o congestie a organelor din cavitatea peritoneală. Vasele mezenterice sînt congestionate. Ficatul conţine cantităţi importante de sînge, care, necoagulîndu-se, se scurge abundent pe suprafaţa de secţiune a organului. Histologic se găsesc leziuni interesante în pulmon. Capilarele pereţilor alveolari, ca şi lumenul venelor sînt pline cu elemente albe, în general polinucleare. Se observă uneori şi un număr important de eozinofile. Acest blocaj al capilarelor explică, după autori, tulburările respiratorii observate la aceste animale. În ficat se constată stază sanguină şi o infiltraţie capilară cu elemente albe. Abundenţa elementelor albe din ficat şi mai ales din pulmon explică leucopenia periferică care urmează injecţiilor de toxină.

La şoareci, leziunile histologice sînt asemănătoare cu cele observate la iepure.

La iepurii care mor intoxicaţi după 8—24 de ore de la injecţie, leziunile histologice sînt de altă natură. Infiltraţia pulmonară este absentă sau discretă, în schimb ficatul este grav lezat. Organul este infiltrat, prezintă zone de degenerescenţă centrolobulară şi uneori chiar focare necrotice asemănătoare celor ce se găsesc în pasteureloza experimentală sau naturală.

Izolarea substanţei active şi natura ei chimică. Toxina pasteurelică poate fi izolată din filtrat prin metode chimice. În acest scop, filtratul activ se tratează cu patru volume de alcool şi apoi se ajustează pH-ul amestecului cu acid sulfuric diluat la valoarea de 4,5. Un precipitat apare imediat în amestec; el se separă prin centrifugare şi poate fi solubilizat în apă distilată alcalină (roz la fenolftaleină). Produsul poate fi purificat prin precipitare în mediu alcoolic, la pH = 4,5, şi solubilizare în apă alcalină la pH = 8,2. Analiza chimică a arătat că precipitatul este o nucleoproteină.

Filtratul toxic nu conţine fracţiunea glucido-lipidică. În schimb, din corpii bacterieni, în special din cei proveniţi din culturi de 24 de ore pe agar, se pot izola două complexe toxice, şi anume: unul glucido-lipidic şi altul nucleoproteinic.

Condiţiile de cultivare, precum şi originea tulpinii par a influenţa cantitatea de complexe toxice conţinute de celula bacteriană. Cercetările făcute pe două tulpini diferite au dat rezultatele consemnate în tabelul 23.

Tabelul 23

Conţinutul în complecşi toxici al germenilor cultivaţi pe agar şi provenind din două tulpini de Pasteurella

Tulpina	Complex glucido-lipidic în procente faţă de bacili uscaţi la 105°C	Complex nucleoproteinic în procente faţă de bacili uscaţi la 105°C
T (tip aviar)	7,14	8,39
252 (tip mamifer)	10,00	21,40

Conţinutul în azot a fost determinat atît pentru bacilii uscaţi, cît şi pentru cele două complexe toxice. Cifrele obţinute sînt date în tabelul de mai jos.

Tabelul 24

Conţinutul în N al pasteurelelor cultivate în bulion şi al fracţiilor toxice respective

Tulpina	Conţinutul în azot în procente al:		
	bacililor uscaţi	complexului glucidolipidic (uscat)	complexului nucleoproteinic (uscat)
T (tip aviar)	9,43	Nu are	9,36
252 (tip mamifer)	8,58	3,55	6,12

Activitatea biologică. Complexul glucido-lipidic este mai puţin toxic decît cel nucleoproteinic, atît pentru şoarece, cît şi pentru iepure.

Şoarecele, de exemplu, suportă 0,5 mg de complex glucido-lipidic (substanţă uscată) pe cale intraperitoneală, în timp ce doze de două ori mai mici de nucleoproteină, în multe cazuri, îl omoară.

Iepurele fiind un animal mult mai sensibil decît şoarecele, pune şi mai bine în evidenţă aceste diferenţe între toxicitatea celor două complexe. Astfel, pentru a produce o intoxicaţie mortală la iepure sînt necesare 2—2,5 mg de glucido-lipidă (substanţă uscată) şi numai 0,5 mg de nucleoproteină (substanţă uscată).

Simptomele şi leziunile produse de complexul glucido-lipidic şi de cel nucleoproteinic sînt asemănătoare, fiind la rîndul lor identice cu cele produse de filtratele active.

Rolul toxinei în apariţia şi dezvoltarea procesului morbid. Toxina pasteurelică este un produs celular care se pune în libertate o dată cu distrugerea celulei. Acest produs apare atît în culturi, cît şi în organismul păsărilor infectate. Stamatin şi Vlădeanu au constatat într-adevăr, că filtratul organelor provenind de la un porumbel mort de pasteureloză produce simptome asemănătoare celor ce se observă în urma injectării filtratului de cultură sau extractului de natură nucleo-proteinică. Existenţa acestui produs în organe, ca şi toxicitatea sa dovedesc rolul esenţial pe care îl are în desfăşurarea infecţiei pasteurelice. Autorii socotesc că infecţia pasteurelică este rezultatul acţiunii a doi factori, şi anume: virulenţa şi toxicitatea. Datorită virulenţei sale, germenul se înmulţeşte în ţesuturile vii. Unele din celulele rezultate din acest proces de înmulţire se distrug, punînd în libertate componentul toxic. Acesta poate influenţa infecţia prin leucopenia pe care o produce în unele ţesuturi. El lezează în plus unele organe vitale — ficat, pulmon, vase sanguine. Activitatea toxinei în producerea infecţiei rezultă şi din observaţiile privind relaţiile dintre patogenitate şi calea de administrare a culturii. Astfel la şoarece, tulpinile apatogene pe cale subcutană îl pot omori cînd sînt administrate pe cale intraperitoneală. Toxina intervine desigur în acest proces. Într-adevăr, şoarecii suportă perfect toxina pe cale subcutană, dar sînt omorîţi cînd produsul este administrat pe cale intraperitoneală. Leziunile produse de toxină favorizează şi decid evoluţia infecţiei, în cazul injectării intraperitoneale a unor germeni care sînt apatogeni pe cale subcutană. Constatarea că unele tulpini nu produc infecţia decît în doze mari poate constitui de asemenea un argument în favoarea influenţei pe care produşii toxici o pot avea asupra procesului morbid.

Faptul că găinile sînt insensibile la toxină şi sensibile la infecţie nu contrazice decît aparent opinia potrivit căreia virulenţa şi toxicitatea intervin în procesul morbid. Infecţia pasteurelică la păsări este însoţită de o înmulţire considerabilă a germenilor, ceea ce duce la realizarea în organism a unei concentraţii de toxină care nu poate fi atinsă prin injecţii. O dovadă, că aşa se întîmplă lucrurile în realitate, o găsim în constatarea că leziunile pasteurelice produse la păsări nu diferă de cele întîlnite la mamifere. O leziune care este mai manifestă la mamifere decît la păsări şi care explică, poate, insensibilitatea găinii faţă de toxine, este infiltraţia pereţilor alveolelor pulmonare.

Cercetările făcute cu privire la posibilitatea de a imuniza animalele faţă de această toxină au fost infructuoase. Oile, ca şi viţeii injectaţi în repetate rînduri cu filtrate toxice, reacţionează de fiecare dată prin simptome asemănătoare. Se observă totuşi o atenuare a tulburărilor respiratorii, leucopenia şi leucocitoza se produc însă totdeauna şi cu regularitate în urma reinjecţiilor de toxină.

Acest fapt explică dificultăţile întîmpinate în încercările de imunizare a animalelor, precum şi unele accidente vaccinale. S-a semnalat într-adevăr, că la bovidee, în urma injectării vaccinului, chiar pe cale subcutană, se produc tulburări respiratorii, care simulează șocul anafilactic. Aceste tulburări sînt uneori foarte grave și ele apar într-un procent cu atît mai mare cu cît cultura care a servit la prepararea vaccinului a fost mai veche, deci mai bogată în toxină. Toxina rezistă la formol ca și la căldură, așa că ea este activă chiar în culturile omorîte.

Alți componenți toxici. Toxina nucleoproteinică nu reprezintă totalitatea factorilor toxici conținuți de pasteurele. Ele conțin desigur substanțe de natură agresinică, răspunzătoare de virulența lor. Este probabil că pasteurelele conțin și o toxină cașectizantă, diferită de nucleoproteina amintită. Într-adevăr, se constată că această din urmă toxină nu cașectizează oile, chiar dacă este injectată în repetate rînduri. În schimb, injecțiile repetate de cultură integrală duc, în scurt timp, la o slăbire accentuată și uneori ireversibilă a oilor. În patogenia proceselor pasteurelice intervin și diverși fermenți, pe care, probabil, această bacterie îi pune în libertate mai ales in vivo. La autopsia animalelor moarte în urma unei injecții experimentale se observă constant, mai ales la locul de inoculare, focare de degenerare și necroză musculară. Această leziune se observă, atît la păsări, cît și la mamifere. În secțiunile din aceste focare se constată diverse faze de degenerare a fibrei musculare. Unele fibre sînt tumefiate și nu mai au striații; altele sînt total dezintegrate. Acest proces patologic se datorește, foarte probabil, unui ferment miolitic. Prezența lui ar putea explica fenomenele de pareză care se observă în cursul infecțiilor pasteurelice la viței și oi. S-ar putea admite că fermentul se solubilizează și alterează uneori întreaga musculatură striată. Parezia s-ar mai putea explica încă și prin infiltrațiile care se produc în țesutul conjunctiv din jurul marilor nervi și care ar exercita o presiune asupra nervilor respectivi. Dată fiind plasticitatea microbilor în general și a pasteurelelor în special, nu este exclus ca in vivo germenii să pună în libertate fermenții de natură adaptivă și să secrete substanțe toxice pe care nu le mai găsim în germenii de cultură. Determinarea echipamentului enzimatic și toxic al unei bacterii in vivo, adică în mediul umoral viu, este o problemă greu de rezolvat. Totuși, numai rezolvarea ei ne-ar putea explica mecanismul patogenității și numai după cunoașterea acestui mecanism am putea organiza, în mai bune condiții, procesul de apărare.

Toxicitatea corpilor bacterieni. Corpii bacterieni omorîți și provenind de la unele specii Gram negative, sînt toxici pentru animalele de experiență. Astfel, colibacilii, omorîți printr-o încălzire de 1 oră la 80°C, omoară doi din trei șoareci injectați intraperitoneal cu o doză de 10 mg (greutate umedă) și unul din trei șoareci injectați, tot intraperitoneal, cu 1 mg de bacili (greutate umedă). Pasteurelele, deși conțin neîndoielnic în soma lor un principiu toxic, sînt practic lipsite de toxicitate pentru șoarece. Într-adevăr, 18 mg de germeni morți — greutate umedă — inoculați la șoarecii pe cale intraperitoneală, nu le produc moartea și nici tulburări manifeste. Doza de 40 mg de corpi microbieni umezi omoară însă un șoarece din trei, iar doza de 60 mg omoară doi șoareci din trei. Șoarecii care supraviețuiesc prezintă accentuate tulburări respiratorii în primele ore după injecție, dar apoi se remit.

Virulența. Virulența tulpinilor variază în limite foarte largi de la o tulpină la alta. În general, tulpinile izolate din forme septicemice de pasteureloză sînt foarte virulente, în timp ce cele izolate din forme cronice sau de pe mucoasele animalelor clinic sănătoase sînt mai puțin patogene sau apatogene. Virulența unei tulpini se poate ușor degrada prin conservare pe medii de cultură în laborator sau la termostat. Procesul pare a fi însă reversibil. Tulpini apatogene pentru găină, dar care omoară vrabia, și-au recăpătat virulența prin treceri pe acest din urmă animal. La fel, s-a putut observa că tulpini care nu omorau șoarecele pe cale subcutană, dar îl ucideau pe cale intraperitoneală și-au recăpătat virulența prin treceri pe această din urmă cale.

Conservarea virulenței tulpinilor se face în bune condiții în sîngele animalelor infectate experimental. În acest scop, sîngele se recoltează din cord, îndată după moarte, în pipete care se închid la flacără și se pun apoi la gheţar. În aceste condiţii, virulența unei tulpini se păstrează aceeași cel puțin 6—8 luni.

Infecția experimentală. Pasteurelele virulente reproduc constant infecția la numeroase specii de animale domestice. Animalele inoculate fac de cele mai multe ori o boală cu evoluție rapidă, 10—72 de ore și cu caracter septicemic. Evoluția infecției este condiționată de poarta de intrare, de doză și de specia animală.

Poarta de intrare. Căile intravenoase și intraperitoneale sînt cele mai severe, urmate fiind de calea subcutană și intramusculară. Administrarea per os a pasteurelelor de cultură nu dă totdeauna rezultate pozitive. Șoarecii se infectează mai constant pe această cale, cînd li se administrează cîte 1—2 picături de cultură. Ingestia hranei, infectată cu pasteurele, nu dă totdeauna rezultate pozitive nici chiar la șoareci.

Pasteurelele din organele animalelor infectate pot produce maladia pe cale bucală. Găinele, care ingerează porțiuni din ficat, provenind de la păsări infectate, mor, într-adevăr de holeră, dacă în organ se găsesc germeni de înaltă virulență. Organele care conțin pasteurele patogene pentru șoarece în doză de 10^{-5} ml de cultură în bulion de 24 de ore nu reproduc infecția cînd sînt ingerate de găini. Ele o reproduc cînd conțin pasteurele care omoară șoarecele în doză de 10^{-9} ml.

Calea nazală este socotită de unii cercetători ca propice producerii infecției. Se obțin constant rezultate pozitive cînd se folosesc culturi de înaltă virulență.

Introducerea culturii, prin larinx în trahee, produce constant infecția la găină, cînd se folosesc culturi foarte virulente, dar nu o produce cînd culturile administrate au o virulență redusă.

Calea intracloacală dă rezultate pozitive. O picătură de cultură, introdusă în cloacă, produce constant infecția (Popovici).

Depunerea culturilor foarte virulente pe mucoasa conjunctivală produce infecția la găini. Tulpinile atenuate sînt inofensive pe această cale (Stamatin și Gogoașă, 1953).

Doza infectantă variază în raport cu specia, tulpina și calea de administrare.

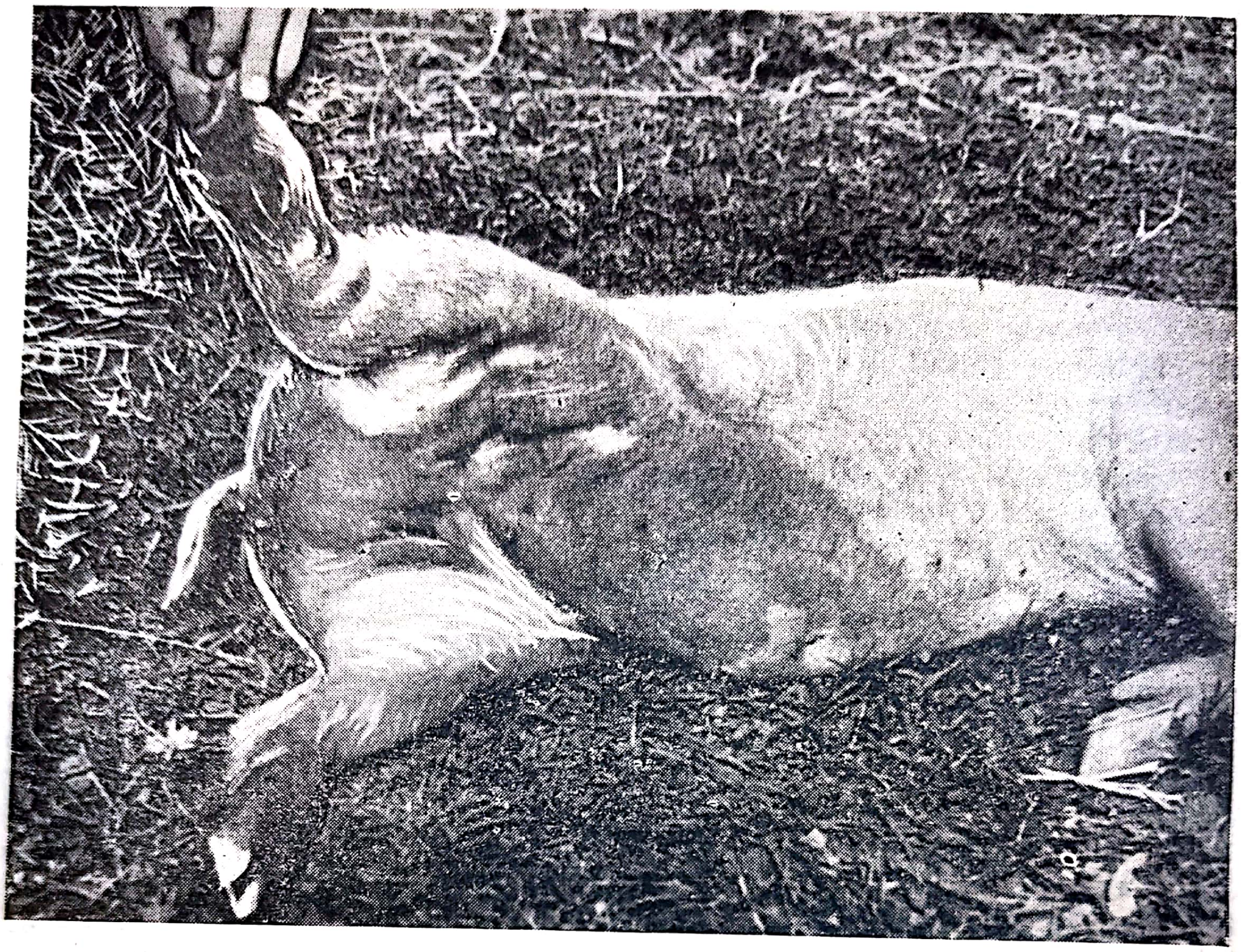


Fig. 29 — Edem cu cianoza pielii la un porc inoculat cu culturi de *Pasteurella* pe cale subcutană (clişeu: Cernea)

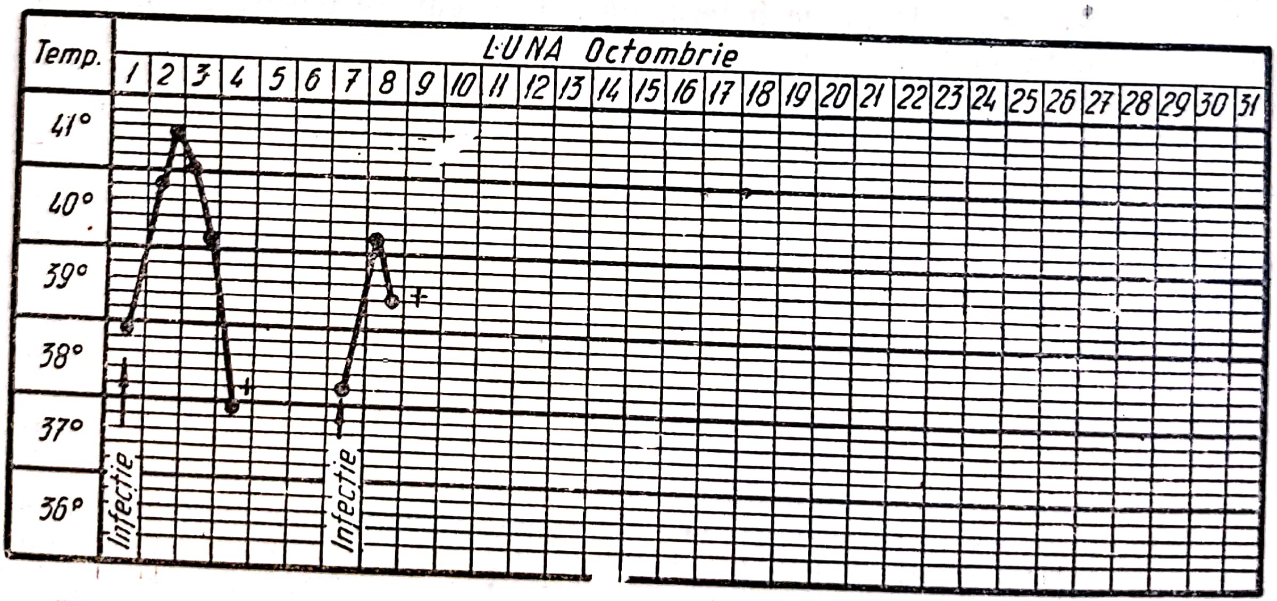


Fig. 30 — Curbele termice la doi juncani injectaţi cu 0,001 ml cultură în bulion de 24 de ore de *Pasteurella animalium* var. *mammalium*, subcutan

Specia animală. Receptivitatea speciilor animale este variabilă. Tulpinile de tip aviar și de virulență plină omoară pe cale subcutană șoarecele, iepurele, găina, porumbelul, în doze sensibil egale, adică la 10^{-8}—10^{-9}, dintr-o cultură în bulion de 24 de ore.

Tulpinile de tip mamifer și de virulență plină omoară șoarecele și iepurele în doze mici, 10^{-8} — 10^{-9}, dar sînt apatogene sau puțin patogene pentru porumbel și găină.

Infecția, cu ambele tipuri, are la speciile receptive o evoluție acută. Moartea survine de regulă în 24—72 de ore de la infecție. La autopsie se găsesc leziuni septicemice și bacteria se izolează din sînge, organe și măduva oaselor.

Cobaiul este, în general, egal de rezistent față de ambele tipuri. Unele tulpini îl omoară în cazul administrării culturii pe cale intraperitoneală. Pe cale subcutană moartea se produce uneori în timpul iernii. Vara, injecția subcutană de cultură — 0,1 — 0,2 ml — produce doar un abces local, urmat de necroză cutanată și ulcer vindecabil (Pasteur, 1880).

Cîinele este rezistent. Cățeii tineri sînt însă sensibili și injectați, pe cale intravenoasă, cu culturi virulente, fac constant formă septicemică mortală.

Porcul este receptiv pentru ambele tipuri. Tipul mamifer pare însă mai activ ca cel aviar. Dar chiar pentru tipul mamifer se constată diferențe importante de la o tulpină la alta. Astfel, sînt tulpini care deși au o patogenitate nu prea ridicată pentru șoarece produc infecții septicemice mortale în cazul injecției unor doze relativ mici — 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore sau mai puțin pe cale subcutană. Alte tulpini deși sînt foarte patogene pentru șoarece — d.l.m. egal cu 10^{-9} ml de cultură în bulion de 24 de ore — nu produc în cazul inoculării subcutane decît edem local, urmat eventual de necroză și escară vindecabile. Infecția se poate produce pe cale respiratorie, dar nu pe cale digestivă.

Bovinele. Tipul mamifer poate omorî viței de 1—2 ani administrat în doză de 0,001 ml de cultură în bulion de 24 de ore. Moartea survine în 2—4 zile.

Cabalinele sînt receptive, mai ales cînd cultura se injectează pe cale intravenoasă.

INFECȚII PASTEURELICE NATURALE

Considerații generale privind în special patogenia pasteurelozelor. Infecțiile spontane produse de *Past. animalium* poartă numele generic de pasteureloze sau septicemii hemoragice și ele se întîlnesc la multe specii de animale domestice, dar o importanță economică deosebită prezintă pasteurelozele de la păsări, porci, bovine și iepuri.

Patogenia infecțiilor pasteurelice în general și a păsărilor în special este o problemă, care, deși a fost mult dezbătută în literatura de specialitate, nu și-a găsit încă o rezolvare pe deplin satisfăcătoare. Concepții variate și contradictorii au fost formulate de specialiști în cursul celor peste 70 de ani care succed descoperirii agentului etiologic.

Pentru Pasteur, holera păsărilor evoluează ca o infecţie exogenă, germenul pătrunzînd în organism pe cale digestivă, o dată cu alimentele. El scrie în această privinţă: „cîteva picături din cultura microbului nostru, depuse pe pîinea sau pe carnea care se dă în mîncare păsărilor ajung ca să permită pătrunderea răului prin canalul intestinal, unde micile organisme microscopice se cultivă într-o aşa de mare abundenţă, încît excrementele găinilor astfel infectate produc moartea indivizilor cărora li se inoculează. Ne putem da seama cu uşurinţă, după aceste fapte, de modul cum se propagă, în crescătorii, boala gravă care ne preocupă" (Pasteur, 1880).

In 1900, deci 20 de ani mai tîrziu, Lignières, supunînd afirmaţiile lui Pasteur unor verificări experimentale, ajunge la concluzii diferite. Pentru acest autor, transmiterea infecţiei pasteurelice pe cale digestivă, este îndoielnică. El scrie în această privinţă: „Eu am făcut, într-adevăr, numeroase încercări de infecţie prin ingestia culturilor virulente sau organelor animalelor moarte de holeră şi n-am reuşit decît foarte rar. Eu am închis păsări sănătoase împreună cu altele pe care le-am injectat cu holeră, fără a observa, de cele mai multe ori contaminarea. In ceea ce priveşte propagarea bolii, crearea unei epidemii, trebuie în mod sigur un factor particular, care ne este încă necunoscut, poate o asociaţie, poate o calitate specială a microbului". Concluzii similare a formulat Gamaleia (1888), care socoteşte greşit, de altfel, că pasteurela este un germen intestinal obişnuit şi din intestin în anumite condiţii, el trece în organism producînd infecţia. Gamaleia şi Lignières întrevăd deci intervenţia unui factor particular în declanşarea epizootiilor de holeră aviară, fără însă a-l putea identifica. Acest factor particular, aşa cum au afirmat mai tîrziu Pritchett şi colaboratorii (1930), Manninger (1934), Cernăianu (1942), este reprezentat printr-o receptivitate particulară a păsărilor. Agentul etiologic nu are după aceşti autori un rol decisiv în apariţia holerei aviare, în sensul că prezenţa sa nu duce în mod obligatoriu la apariţia infecţiei. Autorii citaţi, precum şi alţii, afirmă că se pot descoperi, în unele crescătorii, păsări care poartă germenii pe traiectul căilor respiratorii superioare, fără ca ele să se îmbolnăvească de holeră, dar boala apare la aceste animale atunci cînd anumiţi factori depresivi din mediul ambiant, reducînd rezistenţa organismului, permit pătrunderea şi multiplicarea germenului în ţesuturi. Infecţia ar avea deci, de regulă, origine endogenă. Cernăianu (1942) admite însă că se pot crea şi noi focare de boală, scriind în această privinţă: „cu urina, precum şi cu secreţiile din nas şi cioc se poate ca *Bacillus avisepticus* de la animalele bolnave şi infectate să se elimine şi să murdărească hrana, apa, coteţul, plăgile etc. De aici iau organismele materia infecţioasă. Aşa se formează un nou focar de boală, prin pătrunderea contagiului dinafară, totuşi aceasta se întîmplă numai cînd agentul infecţios găseşte, un organism animal slăbit printr-o altă cauză".

Pătrunderea germenului în organism se face, după aceşti autori, în special la nivelul mucoaselor respiratorii. Hughes şi Pritchett (1930) afirmă în această privinţă: „culturile administrate per os, la pui şi găini, nu reproduc infecţia, în timp ce picurînd cultura în orificiile nazale se obţine o infecţie tipică". In acelaşi sens, Manninger (1934) afirmă: „este dificil de a infecta păsările per os, chiar dacă se utilizează pentru contagiune mari cantităţi de bacili virulenţi sub formă de culturi sau organe provenite de la animalele sacrificate. Infecţia per os este atît de dificilă, că trebuie să admit că animalele care mor în urma unei asemenea administrări prezintă o predispoziţie specială". Holera aviară, afirmă aceşti autori, nu este o boală contagioasă. „*Pasteurella* nu face decît să complice un proces patologic. Apariţia speciei *Ba-*

cillus avisepticus schimbă aspectul şi grăbeşte evoluţia unui proces patologic instalat mai înainte, ridică în mod însemnat cifra mortalităţii şi scurtează durata bolii primare, care ar avea astfel o evoluţie mai lentă" (Cernăianu). Concluzia care se poate trage din aceste date este deci următoarea: holera aviară este totdeauna o infecţie condiţionată; pasteurela poate fi prezentă pe traiectul căilor respiratorii, dar prezenţa sa nu este suficientă ca să declanşeze infecţia.

Aceste concepţii, privind necontagiozitatea holerei aviare şi incapacitatea pasteurelei aviare de a produce infecţia per os, corespund ele totdeauna realităţii, oglindesc fidel patogenia holerei aviare? Se pare că nu şi că ele nu reflectă decît anumite situaţii epizootologice şi nu pe toate. De altfel, în „Bolile păsărilor", carte apărută sub redacţia lui Svinţov şi Uşakov, nu se renunţă total la concepţia pasteuriană şi nu se îmbrăţişează, fără nici o rezervă, teoria necontagiozităţii holerei aviare. „Infecţia naturală, se scrie în această carte, se poate produce prin mucoasa faringiană sau a căilor respiratorii superioare. Nu este exclusă posibilitatea de infecţie prin tractusul digestiv, cu hrana şi apa infectate prin excrementele păsărilor bolnave..." De asemenea, observaţii epizootologice arată că adeseori, cel puţin în ţara noastră, holera evoluează ca o infecţie contagioasă. Cercetările experimentale întreprinse de Stamatin şi Gogoaşă (1954) au arătat, în mod similar, că se pot izola din focare de holeră aviară, pe de o parte, tulpini care produc în mod constant infecţia pe cale digestivă, sau în urma depunerii germenilor pe mucoasele aparente — conjunctivală, nazală, bucală, trahealã — iar, pe de altă parte, tulpini care nu omoară găinile pe aceste diverse căi. Tulpinile din prima categorie se comportă deci ca şi cele cu care a experimentat Pasteur şi ele vor produce infecţii cu un grad însemnat de contagiozitate, iar cele din a doua categorie se comportă ca tulpinile cu care a experimentat Lignières şi ceilalţi autori, iar infecţiile pe care le vor produce, vor fi lipsite de contagiozitate.

Infecţia în cazul administrării per os a culturii virulente, pare că se face la nivelul mucoasei bucale şi nu al celei stomacale sau intestinale. Cercetările făcute în această direcţie de Hertel (1904), Müller (1910) şi alţii au arătat că introducerea pasteurelelor virulente direct în compartimentele gastrice cu sonda sau în pilule nu provoacă infecţia, deşi germenii respectivi reproduceau boala pe cale bucală.

In concluzie, holera aviară poate evolua ca o boală contagioasă sau necontagioasă. Formele contagioase sînt produse de tulpini de mare virulenţă, capabile să traverseze mucoasele aparente şi să producă infecţia. Formele necontagioase sînt produse de tulpini de virulenţă mai redusă, incapabile să producă infecţia pe cale digestivă.

Formele contagioase de holeră sînt necondiţionate şi se caracterizează epizootologic printr-o evoluţie rapidă, cu o mortalitate ridicată şi putere de difuziune mare. Formele necontagioase sînt condiţionate şi se caracterizează epizootologic printr-o evoluţie lentă, trenantă. Aceste forme apar în crescătoriile de păsări în care există purtători de pasteurele puţin patogene şi în care umiditatea ridicată, deficienţele alimentare, îngrămădirea păsărilor în spaţii restrînse (Gogoaşă, 1954) etc., le reduc rezistenţa.

Infectarea unei crescătorii de păsări va avea urmări diferite, în raport cu calitatea germenului care a pătruns în efectiv. Dacă germenul pătruns este patogen pe cale digestivă şi traversează mucoasele aparente se va produce o infecţie cu evoluţie acută, cu un procent mare de mortalitate şi cu o însemnată putere de difuziune. In acest caz, evoluţia infecţiei nu va fi condiţionată de starea de întreţinere a păsărilor. Din contră, dacă germenul nu este patogen pe cale digestivă, pătrunderea lui în crescătorie nu va fi urmată de mortalitate decît atunci cînd păsările prezintă un dezechilibru fiziologic. In absenţa acestei stări de dezechilibru, *Pasteurella* de acest tip poate pătrunde în crescătorie fără să facă nici o victimă. Ea devine însă agresivă cînd starea de dezechilibru îşi face apariţia.

Factorii cosmoclimatici au un rol însemnat în apariţia şi tipul evolutiv al bolii. In U.R.S.S., Rotov (1953) observă că infecţiile pasteurelice sînt mult mai frecvente în regiunile umede din zona submuntoasă decît în regiunile secetoase, cu vegetaţie puţină, cu multe zile însorite. Autorul explică aceste diferenţe atît prin capacitatea solurilor submuntoase de a conserva pasteurelele un timp mai îndelungat, cît şi prin numărul mare de purtători de germeni din aceste regiuni: 63% la porci, 58% la boi şi 40% la ovine. Importanţa factorilor climatici în apariţia pasteurelozelor la păsări, bou, porc este unanim recunoscută (Vittoz, 1952, Cernea, 1956 şi alţii).

Pasteurelozele diverselor specii animale

Pasteureloza păsărilor

(Cholera avium)

Pasteureloza păsărilor sau holera aviară prezintă, alături de pasteureloza bovinelor şi porcinelor, cea mai mare importanţă, prin întinderea şi pierderile economice pe care le provoacă. Infecţia este răspîndită aproape pe tot pămîntul şi, în R.P.R., în unii ani, ea ucide aproape toate păsările de pe întinse regiuni. Epizootiile de holeră îşi fac apariţia de obicei către sfîrşitul lunii august, continuă pînă în primăvară, iar în luna mai încetează aproape cu desăvîrşire. În anii ploioşi, boala se poate întîlni însă şi în lunile de vară. La păsări, boala evoluează de cele mai multe ori acut sau supraacut şi mai rar subacut sau cronic.

Epizootologie. Se pot distinge două tipuri evolutive şi anume un tip trenant şi altul exploziv (Stamatin, 1953). Tipul trenant este produs de tulpini de virulenţă scăzută şi se caracterizează printr-o mortalitate redusă şi în salturi. Chiar în efective mari, în aceste forme, zilnic nu mor decît cîteva păsări şi sînt zile cînd nu moare niciuna. Perioadele de acalmie nu durează însă mult şi ele sînt urmate de reapariţia cazurilor mortale. Reapariţia mortalităţii este în legătură cu unii factori de mediu — climatici, igienici sau alimentari — care reduc rezistenţa păsărilor şi permit germenilor pe care ele îi poartă să declanşeze boala. Păsările care se găsesc într-un focar de pasteureloză trenantă sînt în general şi în totalitate purtătoare de germeni de virulenţă mică, care nu pot produce infecţie mortală decît în organisme, avînd o redusă rezistenţă nespecifică.

Tipul exploziv este produs de tulpini de mare virulenţă; infecţia în acest caz, are o origine externă crescătoriilor în care apare şi epizootologic se caracterizează printr-o mare difuziune în cadrul crescătoriei afectate şi printr-o mortalitate care poate atinge cifra de 100%. In cîteva zile totalitatea păsărilor unei crescătorii poate fi distrusă. Mortalitatea zilnică atinge cifre impresionante. Boala poate difuza şi la crescătoriile vecine. Infecţia se poate face prin contactul păsărilor sănătoase cu cele bolnave, precum şi prin diverse materiale contaminate — hrană, apă etc. Păsările sălbatice pot duce contagiul la mari distanţe. Novikov (1954) semnalează, în această privință, că într-o crescătorie de păsări holera a apărut după ce, în prealabil infecția a fost diagnosticată la ciorile care umblau prin crescătorie și care mureau de holeră.

Simptome. Holera păsărilor are, în majoritatea cazurilor, o evoluție supraacută. Animalele mor mai ales în cursul nopții; păsări care seara nu prezentau nici un semn de boală și care s-au suit în pătul sau în pom au fost găsite moarte dimineața. Simptomele clinice, în această formă a bolii, durează foarte puțin. Animalul bolnav rămîne izolat, se mișcă cu greutate, respiră greu, pe cioc, iar creasta și bărbiile sînt cianotice. Frecvent se observă emisii de materii fecale diareice și rău mirositoare. Pe gură se scurge uneori o secreție filantă, amestecată cu alimente.

La rațe, boala poate avea o evoluție încă și mai rapidă; ele pot fi găsite moarte în cotețe sau mor în timpul zilei fără a fi prezentat vreun semn de boală. Ele mor uneori lîngă vasul cu apă, cu ciocul chiar în apă. Mor, așa cum se spune, bînd apă. La gîște, infecția are o evoluție asemănătoare cu cea de la rațe. Holera la curci și bibilici nu prezintă nimic particular în comparație cu infecția găinii.

Boala, la toate speciile de păsări, are uneori o evoluție mai îndelungată. Greutatea în respirație, în aceste cazuri, este mai puțin accentuată și moartea survine după 1—2 zile. Diareea este totdeauna prezentă. Vindecările complete sînt foarte rare; la unele păsări boala durează cîteva zile, dar, în cele din urmă, ele mor, prezentînd la autopsie, de regulă, o pneumonie cu numeroși germeni în pulmoni. Alteori, în formele cronice ale bolii, germenul se localizează pe seroasele articulare, producînd artrite purulente, caracterizate printr-o tumefacție importantă a articulației inflamate. La deschiderea articulației se elimină o materie cazeoasă de culoare gălbuie sau albă-cenușie, care conține foarte multe pasteurele. Abcese pasteurelice se pot constitui și în alte țesuturi (conjunctiv, pulmonar, testicular etc.). S-au descris de asemenea și peritonite holerice. Pasteurelele izolate din leziuni cronice sînt în general puțin virulente. În edemul bărbiilor, boala care se întîlnește destul de frecvent la găini (Csontos, 1930) în unele țări, dar mai puțin la noi, se găsesc, după unii autori, pasteurelele în 50% din cazuri.

Bugeac și colaboratorii (1956) descriu o enzootie în care singura manifestare a bolii era edemul bărbiilor; din leziunea locală, autorii izolează o tulpină destul de patogenă pentru șoarece, 10^{-8} ml cultură în bulion de 24 de ore, fiind doza minimă mortală. Cu tulpinile izolate au putut reproduce boala spontană — edemul bărbițelor.

Modificări anatomice. La autopsia păsărilor moarte în urma unei infecții cu o evoluție rapidă, se constată, în primul rînd, congestia tuturor organelor interne. Splina este mărită; singele este uneori asfixic, necoagulat. Peteșii și echimoze se găsesc în toate țesuturile și mai ales pe seroase. Pulmonul este uneori congestionat, alteori edemațiat. Mucoasa intenstinală și chiar conținutul intestinal sînt uneori hemoragice. In formele cu o evoluție mai lungă, mucoasa intestinală se ulcerează. O duodenită fibrinoasă se observă frecvent. Ficatul este congestionat și pe suprafața sa prezintă constant puncte albe-cenușii, necrotice, de mărimi variabile. Zonele necrotice ale ficatului (hepatita necrotică miliară) nu lipsesc, de regulă, în infecţiile spontane şi ele sînt prezente chiar în cele experimentale, în cazul cînd infecţia s-a făcut per os, prin administrarea, de exemplu, a unor organe infectate sau a culturilor unor tulpini patogene pe această cale. Ele nu se găsesc însă constant în ficatul păsărilor infectate experimental pe cale parenterală. În formele subacute sau cronice se găsesc adeseori, leziuni pulmonare. Pulmonul are în aceste cazuri o culoare cenuşie-cianotică şi este abundent infiltrat cu lichid şi elemente albe. Tot în formele subacute sau cronice se întîlnesc, la autopsie, peritonite şi pericardite sero-fibrinoase. Ovaritele pot fi datorite uneori infecţiei pasteurelice (Cernăianu). De asemenea, ruptura oviductului şi ponderea abdominală sînt adeseori o consecinţă a acţiunii patogene a pasteurelei. Abcese pasteurelice în ţesutul conjunctiv subcutan şi în alte ţesuturi sînt frecvent observate.

Diagnostic. Diagnosticul de laborator nu prezintă dificultăţi. În cazurile cu o evoluţie acută, septicemică, examenul microscopic al sîngelui sau organelor este aproape constant pozitiv. Numărul mare de germeni, forma lor ovoidă, coloraţia lor bipolară sînt caracteristici esenţiale ale pasteurelei şi înlesnesc diagnosticul. În cazurile cronice, germenii sînt localizaţi în număr mare numai în leziunile unor organe sau ţesuturi; este necesar de aceea ca examenul microscopic şi cultural să fie efectuat asupra lor. Cultivarea germenilor nu prezintă greutăţi şi culturile pe medii simple şi cu un pH convenabil sînt de regulă pozitive. Pe lîngă mediile simple, putem folosi, în cazuri speciale, şi medii cu glucoză, sînge sau ser, medii în care înmulţirea germenilor este favorizată. Examenul morfologic, cultural, biochimic şi în unele cazuri de patogenitate asigură diagnosticul.

Pentru diagnosticul cultural rapid al infecţiilor bacteriene la păsări, Cernăianu face însămînţări din organe în patru tuburi cu medii diferite, şi anume: bilă de bou, lapte, bulion şi agar. *Pasteurella* nu creşte în bilă, însă se dezvoltă în celelalte medii. Paratificii şi colibacilii cresc în toate mediile, însă aceştia din urmă, spre deosebire de paratifici, coagulează laptele. Cerutti, tot în vederea diagnosticului rapid al infecţiilor pasteurelice, foloseşte, pe lîngă mediile obişnuite, bulion şi agar cu 4% sare. *Pasteurella* nu se dezvoltă în aceste medii hipertonice. După Cernăianu, pasteurelele nu se dezvoltă pe mediul lui Gassner, ceea ce le deosebeşte de paratifici, cît şi de agentul pseudotuberculozei, care creşte pe acest mediu. Inocularea la animalele sensibile, şoarece, porumbel, mai puţin iepurele, care este frecvent infectat spontan cu pasteurele, este recomandabilă şi necesară stabilirii virulenţei şi deci rolului jucat de pasteurelă în procesul patologic din care a fost izolată. Inocularea se poate face direct din organe sau din culturile obţinute. Se fac inoculări din organe atunci cînd se bănuieşte că germenul este prezent şi că nu-l vom putea izola pe medii, fie din cauză că este greu cultivabil, fie din cauză că materialul patologic este prea infectat şi mediul va fi invadat de saprofiţi.

Diagnosticul purtătorilor de germeni este destul de dificil. Însămînţările, ca şi inoculările cu secreţii nazale suspecte, nu dau totdeauna rezultate. La asemenea purtători, seroaglutinarea este rar pozitivă: din 30 de găini cercetate şi sigur purtătoare de germeni numai una a dat reacţia pozitivă. Inocularea secreţiilor nazale pe cale subcutană, la şoarece, este singurul mijloc prin care se pot depista purtătorii. Prin această metodă se pot identifica, în mare parte, dar nu în totalitate, purtătorii unor pasteurele care au un grad oarecare de patogenitate, dar nu pe cei care poartă pasteurele apatogene.

Reacțiile alergice nu par a permite identificarea purtătorilor sau a păsărilor imune.

Pe teren, diferențierea clinică a holerei de alte infecții ale păsărilor este în general dificilă. Pesta și tifoza acută pot avea o evoluție asemănătoare cu holera. În pesta clasică se observă frecvent edemul capului și gîtului, leziune care nu se constată în holeră și care poate să constituie un mijloc de diferențiere a celor două boli. Creasta și bărbiile sînt intens cianotice în holeră, în timp ce în pestă culoarea lor este puțin schimbată de la normal. În spiriloză, spre deosebire de holeră, se constată o paralizie a picioarelor și aripilor, precum și o anemie avansată a crestei și bărbiilor. Anemia crestei și bărbiilor este prezentă însă și în tifoza aviară.

Examenul anatomo-patologic permite un diagnostic diferențial mult mai precis decît cel clinic. Leziunile ficatului ne dau, în special, cele mai prețioase indicații. În pestă, ficatul este degenerat, galben-ciocolatiu. În holeră este congestionat, prezentînd pe suprafața sa puncte necrotice; prezența acestora este tipică pentru holeră. În tifoza aviară, ficatul este mărit în volum, are culoarea bronzului, și ceea ce este caracteristic acestei infecții, este foarte friabil; uneori, din această cauză, el se rupe în timpul vieții și animalul moare în urma unei hemoragii interne. În ficatul păsărilor moarte din cauza tifozei se pot găsi noduli necrotici mari, rotunzi, care se disting prin dimensiunile lor de cei prezenți în holeră. În afară de leziunile ficatului se mai observă și alte leziuni care pot servi la identificarea holerei aviare. În pesta aviară se observă leziuni congestive și hemoragice pe mucoasa stomacului glandular, care sînt patognomonice acestei infecții și lipsesc în alte infecții. Tot în pesta aviară, hemoragiile de pe cord și seroase sînt mici, punctiforme. În holeră, hemoragiile de pe seroase au, de regulă, aspectul unor sufuziuni. În tifoza aviară cordul este deseori micșorat ca volum și prezintă focare necrotice de mărimi variabile, care deformează organul. Această leziune a miocardului nu se observă, nici în pestă, nici în holeră. Nodulii necrotici se pot găsi și în pulmoni și splină în cazul infecției cu *Salm. gallinarum*. În această din urmă infecție se constată aproape constant leziuni ovariene, care lipsesc în holeră.

Examenul bacteriologic permite diferențierea și mai precisă a infecțiilor microbiene ale păsărilor.

Datele epizootologice pot da de asemenea indicații privind diagnosticul unei infecții la păsări. Pesta aviară este o infecție de contact; ea nu poate apărea deci decît în urma introducerii într-o crescătorie a unei păsări bolnave. Holera aviară poate apărea ca infecție de contact, dar și spontan, izvorul de infecție fiind, în acest din urmă caz, un purtător cronic din însăși crescătoria în care apare boala.

Pesta aviară nu afectează palmipedele și în general are o evoluție mai benignă la curci și bibilici. Aceste caractere pot servi la diferențierea ei de holera aviară, care evoluează simultan, la toate speciile de păsări. Se observă însă, uneori, în crescătorii mixte, că holera apare numai la o specie. Mor găinile, dar rațele nu se îmbolnăvesc, sau invers, mor rațele, iar găinile rămîn sănătoase. Aceste cazuri sînt rare și, de cele mai multe ori, holera cuprinde toate speciile de păsări dintr-o curte.

Tifoza aviară, spre deosebire de holeră și pestă, are o evoluție mai lungă și de obicei nu afectează decît puține păsări dintr-o dată. Ea nu se ivește la palmipede și nici la curci sau bibilici. Boala apare, în mod obișnuit, printre găinile de rasă perfecționate și de mare producție.

Profilaxie și tratament. Măsurile folosite pentru a combate o boală infecțioasă sînt, în general, de două feluri : unele tind să împiedice apariția infecției, distrugînd agentul ei etiologic, altele, cînd prima atitudine nu este posibilă, tind să facă rezistente animalele, natural sensibile, prin vaccinare, seroprotecție sau alte măsuri. Pasteurelozele sînt uneori infecții secundare, germenul fiind inofensiv în absența factorilor morbizi ajutători. A combate și a înlătura acești factori ajutători înseamnă a combate însăși infecția. Un adăpost igienic și o nutriție corespunzătoare producției fiecărui animal pot micșora, desigur, mult, pierderile datorite pasteurelozei. Cum aceste condiții nu se pot totdeauna realiza și cum pastreurelozele nu sînt totdeauna infecții condiționate, este necesar, în vederea combaterii lor, să se recurgă la măsuri care au de scop să imunizeze, activ sau pasiv, animalele sensibile.

Imunizarea activă. Generalități privind imunizarea activă antipasteurelică la toate speciile de animale domestice. Una din problemele grele ale imunologiei practice o constituie imunizarea contra pasteurelozelor animale în general și contra holerei aviare în special. Această greutate poate fi apreciată și după numărul foarte mare de cercetători care, începînd cu Pasteur, au abordat problema, fără a-i putea găsi o soluție satisfăcătoare.

Dificultatea rezidă probabil în însăși structura germenului. Spre deosebire de alți microbi, pasteurelele pot persista mult timp într-un organism fără a provoca în organismul respectiv apariția unor elemente ale imnunității, în special a anticorpilor cu funcțiuni protectoare. Dacă bacilul tuberculozei, brucelele, de exemplu, infiltrîndu-se în umorile unui organism produc leziuni, dar și restructurări imunobiologice însemnate, pasteurelele în condiții cvasisimilare nu sînt capabile de a realiza asemenea procese. Ele, așa cum am arătat mai sus, traversează organismul, circulă prin el, dar nu-l impresionează. Trecerea lor prin organism nu lasă urme. Dacă prin contactul cu germenii vii și adeseori virulenți organismul nu se imunizează, este greu să ne așteptăm că el s-ar imuniza solid prin diverse vaccinuri vii sau inactivate. Cercetările făcute au arătat totuși că în anumite condiții se pot crea stări de imunitate chiar la păsări, specii care se imunizează în general mult mai greu decît mamiferele față de infecțiile pasteurelice.

Pasteur (1880) cel dintîi și în condiții bine cunoscute reușește să obțină, dintr-o tulpină virulentă de pasteurelă aviară, o variantă puțin patogenă pentru găini, dar imunizantă. In urma acestor cercetări de laborator, Pasteur încearcă să elaboreze o metodă de vaccinare și, plecînd de la constatarea că, în general, o singură inoculare nu conferă o imunitate suficientă, prepară două vaccinuri, 1 și 2, din tulpini de virulență diferită.

Metoda nu a intrat însă în marea practică, pentru că uneori vaccinurile lui Pasteur nu imunizau, iar alteori produceau infecţie (vezi în special Kitt, 1913). Autorii care au căutat să repete experienţele lui Pasteur au obţinut aceleaşi rezultate (Rădulescu, 1894, Balozet, 1926). În plus, virulenţa tulpinilor nu era constantă şi se putea uşor exalta. Kitt (1913), bazîndu-se pe cercetări mai vechi, afirmă, de exemplu, că tulpinile atenuate de Pasteur şi care inoculate la păsări subcutan, în regiunea aripei, produceau numai reacţii inflamatorii locale, îşi exaltau în aşa măsură virulenţa prin cîteva treceri pe porumbel, încît ele omorau constant găina. Alte încercări (Manninger, 1922) de a imuniza găinile cu tulpini aviare atenuate prin alte procedee (conservare în laborator) au dat de asemenea rezultate puţin satisfăcătoare. Rezultate care nu au satisfăcut necesităţile practicii s-au obţinut şi cu tulpini de tip heterolog. Jensen (1890) foloseşte, în acest scop, primul de altfel, tulpini bovine (izolate de la viţei), Kitt (1913, 1927), Chamberland şi Jouan (1906), precum şi Staub (1925) tulpini de iepure. Balozet (1926) a recomandat să se folosească două vaccinuri şi anume pentru prima injecţie un vaccin corpuscular inactivat preparat din tulpină omoloagă şi pentru a doua o cultură vie de tip heterolog, şi anume bovină pentru găini, aviară pentru porc şi bou. Este dovedit astăzi că pasteurelele vii, atenuate sau virulente, dar aparţinînd altui tip, nu dau rezultate în imunizarea contra pasteurelozei (Roberts, 1947, Schneider, 1948, Carter, 1950, Stamatin şi col. 1950). Paralel cu cercetarea valorii imunizante a culturilor vii, alţi cercetători plecînd în special de la datele obţinute de Toussaint în imunizarea anticărbunoasă (Toussaint este primul cercetător care obţine o imunizare activă a animalelor cu produse inactivate şi el trebuie să fie considerat ca fondatorul metodei de imunizare cu produse inactivate şi aceste produse ar trebui să fie poate numite de tip Toussaint) şi teoria agresinică a infecţiei şi imunităţii fundamentate de Bail, încearcă să imunizeze păsările şi mamiferele cu agresine. Primele încercări au fost făcute de Weil (1905) care foloseşte ca produs imunizant lichidul pleural provocat la iepuri prin inocularea intrapleurală a tulpinilor virulente de pasteurelă aviară. Lichidul era întîi debarasat de cea mai mare parte din bacterii prin centrifugare, era încălzit apoi la 44°C şi i se adăuga şi 0,5% fenol. Acest produs, practic lipsit de germeni, încercat printre alţii şi de Wassermann şi Citron (1905), Citron şi Putz (1907) a dat unele rezultate, dar aceşti autori conchid că imunitatea conferită nu este datorită prezenţei unor agresine în lichid, ci a unor produşi rezultaţi din dezintegrarea bacteriilor în cursul procesului infecţios. Autorii reuşesc să demonstreze acest lucru. Într-adevăr, ei imunizează animalele de laborator cu substanţe extrase din corpii bacterieni după o tehnică proprie. Müller (1910) ajunge la rezultate similare. El prepară un extract bacterian în felul următor: cultura de pe suprafaţa a şase tuburi de agar era luată cu 50 ml de ser de cal; suspensia era agitată mecanic timp de 48 de ore după care se adăugau apoi 20 de picături de cloroform şi suspensia era lăsată încă 8 zile la temperatura camerei şi la adăpost de lumină. Cloroformul se elimina apoi prin încălzire la 44°C. Extractul seric în doză de 5 ml imuniza găinile. 7 zile după injecţia imunizantă păsările rezistau, într-adevăr, la o probă severă de control, dar după 3 luni ele nu mai aveau nici o urmă de imunitate. Produse similare s-au folosit şi la mamifere. Bisanti (1904) arată, de exemplu, că iepurii cărora li s-au implantat în cavitatea peritoneală sacii de colodiu în care se găseau culturi de pasteurele devin imuni. Vassal (1907) obţine rezultate similare la bovine, iar Holmes (1909) imunizează bovinele cu filtrate de culturi. De Boni (1909) şi Sakamato (1922) reuşesc să imunizeze animalele de experienţă cu un produs nucleoproteidic extras din corpii bacterieni după metoda Lustig-Galeoti (Lustig, 1913). Este pe deplin dovedit prin aceste cercetări, ca şi prin altele care au urmat, că pasteurelele nu pun în libertate în ţesuturile vii în care se multiplică un produs antigenic de tip agresinic similar celui întîlnit în ţesuturile animalelor cărbunoase. În cazul bacilului cărbunelui apare într-adevăr, in vivo, un antigen propriu, caracteristic infecţiei şi care nu se găseşte în condiţiile obişnuite de cultură.

Culturile inactivate prin căldură sau antiseptice, aşa-numitele vaccinuri corpusculare, introduse în imunoprofilaxia pasteurelozelor de Grosso (1908) au fost şi sînt încă folosite în imunizarea păsărilor şi mamiferelor contra pasteurelozei. In ţara noastră nu s-a folosit pe teren contra holerei găinilor decît un asemenea vaccin experimentat de Sachelarie (1918), introdus în practică de Riegler, şi verificat printre alţii de Cernăianu (1924). În general, după datele de literatură, valoarea acestui vaccin este socotită acceptabilă de unii autori, iar după alţii nulă.

Incercînd să conchidem asupra acestor date mai vechi de literatură, putem afirma că încă de la sfîrşitul secolului trecut şi începutul secolului al XX-lea cercetătorii au ajuns la convingerea că imunizarea contra pasteurelozelor animale şi în special contra holerei aviare, infecţie pasteurelică care produce cele mai multe pierderi economice, este o problemă dificilă, dar că prin folosirea unor produse biologice se pot realiza stări de rezistenţă care fără a putea crea o imunitate absolută reduc receptivitatea animalelor faţă de germeni şi deci pierderile. Aceste rezultate se pot obţine prin:

1. vaccinuri reprezentate prin culturi de germeni vii, dar de virulenţă redusă;
2. prin culturi inactivate — vaccinuri corpusculare şi
3. prin produşi rezultaţi din liza germenilor.

Serovaccinarea în pasteureloza bovină încercată de Blin şi Carougeau (1902), precum şi vaccinul sensibilizat al lui Baldrey (1911) nu au intrat propriu-zis în practică. Metoda este prea costisitoare şi costul nu este justificat de rezultate. De asemenea vaccinarea per os, încercată de diverşi cercetători (Koroşilov şi Lourie 1927, Urbain şi Goret 1932), nu a dat rezultate valabile pentru practică. Cercetările mai recente nu au schimbat bazele fundamentale ale imunopreventiei antipasteurelice stabilite de vechii cercetători.

Toate cele trei categorii de vaccinuri se folosesc, într-adevăr, şi astăzi. Asupra vaccinurilor vii se fac însă cele mai serioase rezerve (Vaysse şi Zottner, 1952). Valoarea lor imunizantă pare a fi de cele mai multe ori redusă. In plus, mai ales în cazul întrebuinţării tulpinilor virulente de tip heterolog, care au o valoare imunizantă practic nulă (Iriminoiu, 1943), vaccinarea poate contribui la răspîndirea infecţiei printre animalele receptive. În cazul tulpinilor homoloage atenuate se creează purtători de germeni şi nu se poate preciza dacă aceşti germeni, chiar dacă nu-şi modifică in vivo virulenţa iniţială, nu pot totuşi produce stări morbide. Dat fiindcă adeseori din diverse procese patologice se izolează tulpini foarte puţin virulente, această posibilitate nu poate fi exclusă. Pentru aceste motive, vaccinurile vii au fost aproape total abandonate. În ultimul timp, Hudson (1954) mai încearcă totuşi să le folosească. El selecţionează din tulpini bovine virulente, cultivate în bulion-ser artificial aerat, variante puţin patogene pentru şoarece, care sub formă liofilizată au fost folosite pentru vaccinarea bivolilor în Tailanda cu rezultate satisfăcătoare. În majoritatea ţărilor bîntuite de pasteureloze se folosesc însă fie vaccinurile corpusculare, fie lizatele pasteurelice. Valoarea acestor diverse vaccinuri a fost mult mărită, prin introducerea substanţelor adjuvante ca saponina, gelul de hidroxid de aluminiu, tapioca, lanolina etc. Primele lucrări privind valoarea adjuvantelor în imunizarea antiholerică au fost iniţiate de Riegler şi executate de Billes (1934) şi Haroviuc (1936). Din cercetările acestuia din urmă rezultă că vaccinul corpuscular în amestec cu yatren (un compus iodat) în proporţie de 1% imunizează mai bine şoarecii şi porumbeii decît vaccinul corpuscular singur. Billes foloseşte cu bune rezultate clorura de calciu şi tapioca, ambele în proporţie de 2%.

În ultimul timp au apărut numeroase lucrări care se ocupă de valoarea imunizantă a vaccinurilor cu diverse adjuvante. Nikiforova (1948), de exemplu, după ce cercetează mai multe tipuri de vaccinuri corpusculare, inactivate prin formol şi în amestec cu diverse adjuvante (lanolină, saponină), se opreşte la un vaccin precipitat care dă autoarei cele mai bune rezultate, atît la păsări, cît şi la bovine. În condiţii experimentale, acest vaccin imunizează animalele (găină, bou, oaie) suficient de solid şi imunitatea durează în medie 3 luni. Vaccinul conservă acceaşi culoare timp de 11 luni şi jumătate. Un vaccin corpuscular inactivat prin formol şi în amestec cu lanolină-parafină ca adjuvant a fost folosit de Bain (1954), obţinînd, la bovine, rezultate bune. Autorul insistă asupra necesităţii de a folosi la prepararea vaccinurilor germeni virulenţi şi care posedă tot echipamentul lor toxic, deoarece admite, ipotetic de altfel, că germenii virulenţi posedă în momentul izolării un antigen similar cu antigenul Vi al altor bacterii, antigen care se pierde prin treceri pe mediile artificiale. Printr-o metodă originală (aglutinare cu Cetavlon — bromură de amoniu cetiltrimetil) Bain poate distinge germenii capabili să imunizeze şi care se găsesc, după autor, în faza I, de cei neimunizanţi şi care sînt în faza a II-a. Vaccinurile preparate din germenii din faza I conferă o imunitate solidă bovinelor : din 12 bovine vaccinate şi probate după 4—5 săptămîni cu 50 000 d.l.m., 11 au rezistat. Bovinele injectate cu vaccinuri preparate din germeni care se găseau în faza a II-a s-au imunizat într-un procent foarte redus — 1 din 10. În ţara noastră, Ungureanu a reuşit să imunizeze destul de solid bovinele cu un vaccin corpuscular, inactivat prin formol şi fără substanţe adjuvante. Animalele vaccinate au suportat fără nici o reacţie cel puţin 1 000 de doze minime mortale de cultură. Rezultate similare obţine şi Cernea şi colaboratorii (1957). La bovine, s-au obţinut rezultate bune şi cu lizatele culturilor pasteurelice. **Delpy** şi **Mir Champsy** (1949). de exemplu, folosesc fie lizate ale culturilor, în prealabil inactivtate prin mertiolat, fie lizatele unei digestii peptice. În 1952, **Delpy** manifestă preferinţe pentru acest vaccin, care este lipsit de toxicitate şi care în amestec cu hidroxid de aluminiu imunizează solid bovinele.

În ceea ce priveşte păsările, imunizarea lor este mult mai dificilă. **Vaysse** şi **Zottner** (1952) au încercat să imunizeze găinile după metoda Balozet, adică prin două vaccinuri, şi anume: un vaccin mort şi un vaccin viu preparat din tulpini de tip heterolog. Rezultatele au fost uneori bune, alteori dezastruoase, în sensul că după injectarea tulpinii de tip heterolog toate păsările au murit. Un vaccin care pare a da unele rezultate este recomandat de **Carter** (1950), **Daugherty** (1953) şi se prepară din embrioni de găină morţi în urma infecţiei cu pasteurele aviare. Autorii admit că germenii din embrion posedă toţi antigeni răspunzători de infecţie şi în consecinţă ei au o mai mare capacitate imunizantă ca germenii din culturi. **Kujumgiev** (1954), în Bulgaria, obţine rezultate care îl satisfac, cu lizate obţinute din culturile de *Pasteurella* după procedeul Wassermann şi Citron (agitare mecanică) şi adsorbite pe hidroxid de aluminiu la pH=8,4. În condiţii experimentale, păsările imunizate cu acest produs, pe care autorul îl numeşte agresină integrală, au rezistat la o probă de control făcută cu 3 000 d.l.m. Imunitatea durează 6 luni. După cercetările făcute de **Ţaga**, **Gogoaşă** (inedite) vaccinul preparat din culturi în bulion de 24—48 de ore, inactivate prin formol şi adsorbite pe hidroxid de aluminiu, conferă păsărilor un grad de imunitate incomparabil mai mare ca acel conferit de acelaşi vaccin fără hidroxid de aluminiu. Astfel, în timp ce vaccinul cu hidroxid de aluminiu imunizează, în medie, în condiţii experimentale, 60—80 şi chiar 100%, cel fără hidroxid de aluminiu nu imunizează decît 20—30% din totalul păsărilor injectate.

*

Reiese din această sumară expunere că s-a reuşit să se obţină vaccinuri care dacă nu pun totdeauna la adăpost toate animalele faţă de infecţia pasteurelică, le conferă, cel puţin unora din ele, o rezistenţă capabilă să învingă infecţia naturală. Este de remarcat că din punct de vedere al posibilităţii de imunizare speciile animale nu se comportă la fel. Bovinele dintre mamifere profită cel mai mult de imunizarea activă. **Cernea** a comunicat recent (1957) că printre bovinele şi bubalinele imunizate cu vaccin corpuscular inactivat nu apar deobicei cazuri de pasteureloză, deşi animalele se găsesc în aceleaşi condiţii de hrană şi mediu cu cele nevaccinate şi la care procentul de mortalitate este uneori foarte ridicat. Găinile sînt, în comparaţie cu bovinele, mai puţin susceptibile de imunizare, dar totuşi în condiţii experimentale şi de teren se pot crea solide stări de imunitate. **Stamatin**, **Georgescu** şi **Luscalov** (1954), au arătat, de exemplu, că prin inoculări repetate unele găini pot obţine o astfel de stare de imunitate încît rezistă chiar la 1 miliard de d.l.m. Mecanismele imunităţii antipasteurelice la găini nu funcţionează însă totdeauna în condiţii perfecte, ceea ce reiese din constatarea că o găină care a rezistat o dată la o doză mare poate muri la inocularea ulterioară a aceleiaşi doze sau chiar a unei doze mai mici. Există deci la găină momente fiziologice în care sistemul defensiv creat prin imunizare nu funcționează și atunci infecția se produce. Insuccesele care se semnalează adeseori pe teren își pot găsi în aceste date experimentale o explicație și ele sînt datorite mai mult tipului constituțional al păsării decît deficiențelor produsului imunizant.

Stamatin și colaboratorii (1945) au constatat, în același sens, că producția de anticorpi protectori este mult mai redusă la păsări ca la alte specii. Astfel, păsările inoculate în repetate rînduri cu cantități importante de cultură vie și virulentă nu conțin, așa cum se vede din tabelul 25, anticorpi decelabili prin titrări pe șoarece.

În ceea ce privește imunizarea antipasteurelică la porci și mai ales la iepuri, ea este o problemă practic nerezolvată.

Tabelul 25

Titrarea valorii protectoare pentru șoarece a serurilor antipasteurelice preparate pe cal și găină

Originea serului	Volumul de ser injectat intraperitoneal	Cantitatea de cultură inoculată pe cale subcutanată	Rezultatul
Ser imun de cal	0,05	0,001 ml[1]	Mort în 70 ore
	0,05		Rezistă
	0,10		Rezistă
	0,10		Rezistă
Ser de găină imună (nr. 20)	0,20	„	Mort în 20 ore
	0,20	„	„ „ 28 „
	0,40	„	„ „ 28 „
	0,40	„	„ „ 26 „
Ser de găină imună (nr. 22)	0,20	„	Mort în 27 ore
	0,20	„	„ „ 25 „
	0,40	„	„ „ 28 „
	0,40	„	„ „ 26 „
Ser de găină imună (nr. 23)	0,20	„	Mort în 20 ore
	0,20	„	„ „ 28 „
	0,40	„	„ „ 27 „
	0,40	„	„ „ 28 „
Martor		„	Mort în 28 ore
		„	„ „ 27 „

---

[1] S-a folosit pentru infecția de control o cultură în bulion de 24 de ore a unei tulpini care omoară porumbelul și șoarecele în doză de 10^{-8}, deci fiecare șoarece a primit 100 000 de doze minime mortale.

În condiţii experimentale, Ungureanu a imunizat porcii cu un vaccin corpuscular adsorbit sau nu pe hidroxid de aluminiu. Adsorbţia nu pare a influenţa, după aceste cercetări, sensibil intensitatea imunităţii. Cernea (1957) constată însă că imunitatea chiar dacă se instalează, ea este de foarte scurtă durată. Practicienii care au recurs la vaccinarea porcilor în scopul combaterii pasteurelozei sînt în general, foarte sceptici. La iepuri, injectarea vaccinurilor nu conferă, în condiţii naturale, nici o protecţie animalelor, deşi în condiţii experimentale iepurele răspunde la antigenul pasteurelic şi fabrică anticorpi neutralizanţi în cantităţi importante. Într-adevăr, mulţi cercetători, printre care Roberts (1947), Ignatova (1956) s-au folosit în lucrările lor de tipizare a pasteurelelor de seruri imune, preparate pe iepuri.

Vaccinurile antipasteurelice, folosite în prezent în toate ţările lumii, nu dau rezultate bune şi de aceea trebuie să se facă eforturi în scopul îmbunătăţirii lor. Îmbunătăţirea vaccinurilor va rezulta, foarte probabil, din studiul biochimic şi imunologic al tulpinilor de *Pasteurella,* studiu care va permite, în primul rînd, cunoaşterea mai exactă a mecanismului acţiunii patogene a germenului, adică a factorilor care determină virulenţa unei tulpini şi în al doilea rînd va da posibilitate imunologilor să selecţioneze tulpinile cu cea mai mare valoare imunogenică.

Cercetările făcute de Popovici şi Gogoaşă (1953—1955), Stamatin şi Gogoaşă (1957) au arătat deja că imunizarea şoarecilor nu se poate realiza decît cu anumite tulpini, că există deci tulpini imunizante şi tulpini neimunizante sau mai puţin imunizante. Selecţia tulpinilor, aşa cum reiese din aceste cercetări, va permite deci să se obţină vaccinuri corpusculare de o mai mare valoare. De asemenea, trebuie cercetată şi capacitatea imunizantă a diverselor lizate pasteurelice, întrucît se pare că în aceste produse există fracţiuni care au o potenţă antigenică mai mare ca în vaccinurile corpusculare. Stamatin şi Gogoaşă (1957) au arătat, în acest sens, că lizatele penicilinice se bucură de o însemnată capacitate imunizantă. Prin concentrarea principiului imunizant şi eventual prin izolarea sa din filtrat şi debarasarea produsului imunizant de componenţii toxici şi care probabil exercită o acţiune depresivă asupra organismului, inhibînd procesele de imunitate, s-ar ajunge poate la un produs vaccinal mai bun. Studiul serologic al tulpinilor (Yaw şi col., 1955) ar putea de asemenea contribui la rezolvarea problemei legate de selecţionarea tulpinilor cu o bună valoare imunogenă.

Serul antipasteurelic. Prepararea şi valoarea sa preventivă şi curativă. Serul antiholeric este de o eficacitate necontestată în prevenirea pasteurelozei păsărilor. El se poate prepara pe cai, dar şi pe alte specii animale. Kitt (1892) a obţinut, pentru prima oară, un ser pe găină şi apoi (1897), împreună cu Mayr, pe cal. Rădulescu (1894) obţine ser antiholeric atît pe păsări, cît şi pe cîine. Serurile iniţial obţinute de diverşi autori, aveau o valoare redusă. Ele nu reuşeau decît să prelungească durata infecţiei la păsările, iepurii sau şoarecii infectaţi. Cercetările de mai tîrziu au arătat că se pot obţine pe cal, bou sau oaie seruri cu o mare capacitate antiinfecţioasă, aşa cum reiese în special din titrările făcute pe şoareci. Stamatin şi colaboratorii (1950), de exemplu, au preparat un ser foarte activ pe oaie. Oaia, ca și celelalte specii de altfel, suportă însă cu urmări grele culturile de pasteurelă și animalul supus injecțiilor repetate de multe ori se cașectizează și moare. Protocoalele de preparare a serurilor antipasteurelice variază în amănunte de la un institut la altul.

Institutul „Pasteur“ a preparat mult timp serul antiholeric numai pe cal, după protocolul dat mai jos.

Primele două injecții se făceau cu cîte 10—20 ml de culturi în bulion, omorîte prin formol. Urmau apoi opt injecții cu culturi virulente, în doze crescînde de la o injecție la alta, și anume:

trei injecții cu cîte 20—50 ml de cultură în bulion de 24 de ore;
două injecții, respectiv cu cîte 100 și 200 ml de amestec, în părți egale, de culturi de 24 de ore și culturi de 6 zile în bulion;
trei injecții, respectiv cu 300, 300 și 400 ml de amestec 1/3 de cultură de 24 de ore, 2/3 de cultură de 6 zile, tot în bulion.

Injecțiile se făceau pe cale intradermică și subcutană. Intradermic se injecta un procent redus de cultură, cea mai mare parte fiind introdusă pe cale subcutană. Sîngerările se făceau 14 și 17 zile după ultima injecție.

Activitatea serului imun se titrează pe șoareci. Un ser bun protejează șoarecele în doză de cel puțin 0,1 ml față de 0,001 ml de cultură în bulion de 24 de ore dintr-o tulpină care omoară șoarecele normal în doză de 10^{-8} — 10^{-9} ml de cultură în bulion de 24 de ore.

Caii, ca și oile, suportă greu antigenul pasteurelic. Datele culese din registrele Institutului „Pasteur“ arată, în această privință că din 100 de cai folosiți la prepararea serului antipasteurelic 35% mor înainte de a ajunge la sîngerare, 34% mor înainte de a împlini 1 an de exploatare, 31% depășesc 1 an de exploatare și numai 1 exemplar din 88 a putut fi exploatat timp de 4 ani. Institutul „Pasteur“ prepară acum, după un protocol mai simplu ca cel folosit la cai (injecții subcutane și cîteva injecții intravenoase), pe bou, un ser mixt, polivalent, activ față de toate infecțiile pasteurelice ale animalelor.

Serul imun, aplicat în practică, dă rezultate bune. Injectat în doze de 2—4 ml la găină sau rață și în doze duble la gîscă sau curcă el protejează aceste păsări timp de 6—8 zile față de o infecție pasteurelică experimentală sau naturală. Dacă în intervalul de timp în care păsările se găsesc la adăpost de infecție, datorită imunității pasive conferinte de ser, se înlătură cît mai total posibil, pe de o parte factorii predispozanți, în special cei datoriți unei nutriții necorespunzătoare, pe de alta parte prin curățire mecanică și dezinfecție ocaziile de infecție masivă, se ajunge uneori la dispariția bolii dintr-o crescătorie.

Chimioprevenția și chimioterapia holerei aviare. Prevenirea și tratamentul holerei la păsări se pot face și cu unele sulfamide în special sulfatiazolul așa cum reiese din încercările întreprinse în această direcție printre alții și de Stamatin, Georgescu și Luscalov (1945). Reiese din aceste cercetări că 0,5 de sulfatiazol, administrat per os, previne o infecție simultană făcută cu 10 milioane de doze minime mortale de cultură virulentă de pasteurelă de tip aviar. Pe cale parenterală sulfamida este încă și mai activă și doza de 0,125 g poate preveni o infecție masivă. Sulfatiazolul, eliminîndu-se repede din organism, valoarea sa preventivă este de durată limitată, 0,5 g de sulfatiazol, administrat per os, nu previne infecţia decît cel mult 24—48 de ore. S-a cercetat şi activitatea altor sulfamide, dar s-a constatat că ele sînt mai puţin active decît sulfatiazolul. De exemplu, în aceleaşi condiţii de lucru, sulfatiazolul protejează patru porumbei din patru, sulfapiridina doi din patru, solusepțazina trei din patru, septoplixul doi din patru, sulfapiridina doi din patru, iar prontozilul nici un porumbel din cei patru infectaţi. Sulfaguanidina, în raport cu sulfatiazolul, are de asemenea o acţiune mai puţin însemnată. aşa cum se poate vedea şi din tabelul ce urmează.

Tabelul 26

Activitatea protectoare a sulfaguanidinei faţă de infecţiile pasteurelice experimentale la găină

Numărul găinii	Doza de sulfaguanidină administrată per os	Numărul de d.l.m. inoculate intramuscular simultan cu sulfamida	Rezultatul
1	0,25 g	1 000 000	+ 36 ore
2	0,25 „	100	+ 7 zile
3	0,50 „	1 000 000	+ 16 ore
4	0,50 „	100	+ 3 zile
5	1,00 „	1 000 000	+ 7 zile
6	1,00 „	100	R

În consecinţă, sulfaguanidna nu are o acţiune protectoare evidentă decît în doză de 1 g şi faţă de un număr redus de doze minime mortale. Sulfametiltiazolul, ultraseptilul, după observaţiile făcute de Miklovich şi Pellerdy (1955), poate fi folosit în prevenirea şi tratarea holerei aviare; soluţiile apoase cu 20% ulei, administrate pe cale subcutană, în doză de 0,5 g de substanţă activă pe kilocorp, protejează păsările faţă de infecţie timp de 4—5 zile.

Observaţiile făcute în practică au confirmat datele experimentale, privind eficacitatea sulfamidelor în prevenirea holerei aviare. Astfel, Lapalu (1943) şi Saurat (1943) au aplicat dagenanul (sulfapiridina) în stingerea unei epizootii de holeră, obţinînd, aşa cum reiese din alăturatul tabel, rezultate satisfăcătoare.

Tabelul 27

Valoarea sulfapiridinei în combaterea holerei aviare

Specia	Animale tratate		Animale netratate	
	Numărul animalelor	Numărul animalelor moarte	Numărul animalelor	Numărul animalelor moarte
Gîsca	54	1	37	15
Raţa	31	—	18	14
Găina	233	2	830	119

Autorii au administrat o singură doză, și anume: la găini și rațe cîte 0,125 sau 0,25 g, la gîște 0,25 sau 0,5 g. În aceeași crescătorie un lot de păsări era tratat, iar altul netratat servea drept martor.

Turburi și colaboratorii (1950) obțin de asemenea rezultate bune prin aplicarea sulfamidelor, ei reușind să oprească apariția unor noi cazuri de holeră, într-o crescătorie de păsări infectată administrînd, timp de 9 zile consecutiv, o hrană (uruială uscată) sulfamidată cu sulfaguanidină în proporție de 0,4%. Infecția, după acest tratament, a dispărut din crescătorie, ceea ce înseamnă fie că s-a obținut o sterilizare a tuturor păsărilor infectate și purtătoare, fie o imunizare a lor.

Penicilina, în raport cu sulfamidele, este mai puțin activă în infecțiile pasteurelice ale animalelor în general și ale păsărilor în special. Cercetările experimentale întreprinse în această direcție de Stamatin și Vlădeanu demonstrează slaba eficacitate a produsului. Astfel, 500 U. I. de penicilină, injectate intravenos, nu protejează porumbeii față de o infecție făcută cu 1 d.l.m. 1/2 oră după administrarea penicilinei. În aceleași condiții, 1 000 U.I. de penicilină protejează însă porumbelul. La șoareci 500 U.I. de penicilină neutralizează o infecție cu 10 d.l.m. dar nu una făcută cu 100 sau mai mult de d.l.m.

Streptomicina pare, a fi mai activă, ca penicilina. În doză de 10 mg ea protejează atît porumbeii, cît și puii de 3—4 luni față de o infecție simultană, făcută cu 10 000 d.l.m. În aceleași condiții, doza de 5 mg protejează un porumbel din doi, iar la pui întîrzie moartea cu 12 ore față de martori (Răducănescu).

Rezultate similare se obțin cu aureomicină și cloromicetină (Sîrmon și Marica). Teramicina, după Gualandi, amestecată în hrană, în proporție de 0,22%, dă rezultate pozitive în prevenirea holerei la păsări.

Practica combaterii holerei aviare. Menținerea echilibrului fiziologic printr-o alimentație și o igienă corespunzătoare este prima și cea mai importantă măsură în combaterea holerei. O a doua măsură importantă este de a evita contactul păsărilor dintr-o crescătorie indemnă cu păsări de origine necunoscută. În consecință, crescătoriile de păsări vor fi izolate și în ele nu se vor introduce păsări cumpărate la tîrguri sau din crescătorii care sînt infectate cu holeră sau despre care nu se știe în mod precis că sînt indemne de această infecție. Păsările achiziționate în aceste condiții, chiar dacă aparent sînt sănătoase, pot fi purtătoare de germeni și pot deci introduce infecția într-o crescătorie.

În crescătoriile care respectă aceste prescripții, folosirea vaccinului este inutilă și chiar dăunătoare. El produce o depresiune organică, care scade producția și înlesnește instalarea altor afecțiuni.

În crescătoriile în care măsurile de izolare și de igienă nu sînt cele cuvenite, se poate recurge la vaccinare. Vaccinul se va injecta cu regularitate din 3 în 3 luni. Chiar procedind în acest fel nu se obțin, în toate cazurile, rezultate pozitive, căci boala poate apărea și la păsări regulat vaccinate.

Apariția holerei într-o crescătorie trebuie să fie diagnosticată din timp, rezultatele obținute prin mijloace actuale de combatere fiind în funcție de momentul aplicării lor. Cu cît se intervine mai repede după apariția bolii, cu atît rezultatele sînt mai bune. Pentru a asigura un diagnostic precis și precoce este necesar ca orice pasăre moartă să fie autopsiată și, eventual, examinată și la un laborator de bacteriologie.

În cazul cînd într-o crescătorie s-a diagnosticat holeră aviară, se vor lua de urgență următoarele măsuri.

1. Seroprofilaxia sau sulfamidarea tuturor păsărilor sănătoase, dar făcînd parte din padocurile cu cazuri mortale; cele bolnave se vor sacrifica imediat, în condiții care să împiedice difuzarea infecției. Serul se va repeta din 7 în 7 zile, iar sulfamidele din 24 în 24 de ore, pînă la stingerea epizootiei. Sulfamidele se pot administra cu hrană, uscată sau umedă, în concentrații variind după tipul de sulfamidă: 0,2 — 0,3% pentru sulfatiazol, 0,4—0,5% pentru sulfaguanidină. Prevenția și chiar tratamentul cu streptomicină dau rezultate pozitive. Streptomicina se va administra în doze de 10—20 mg pentru fiecare pasăre.

2. Vaccinarea păsărilor din padocurile în care nu s-au înregistrat cazuri de boală cu vaccin adsorbit pe hidroxid de aluminiu.

3. Schimbarea locului, sau, dacă aceasta nu este posibil, dezinfectarea lui riguroasă.

4. Îmbogățirea hranei în alimente verzi.

5. Măsuri sanitare severe constînd din:

a) curățirea mecanică a tuturor dejecțiilor, dacă este posibil imediat după eliminarea lor;

b) izolarea ori sacrificarea păsărilor bolnave imediat după apariția simptomelor;

c) schimbarea cît mai frecventă a apei de băut, căreia i se poate adăuga albastru de metilen în proporție de 1 g la 100 l.

Aceste măsuri cu cît vor fi luate mai repede după apariția bolii, cu atît vor da rezultate mai bune. Într-adevăr, cu cît măsurile se iau mai tîrziu după apariția primului caz, cu atît este mai mare numărul păsărilor care s-au infectat, devenite astfel purtătoare de germeni. Păsările purtătoare de germeni pot fi protejate de serul imun, dar se pot îmbolnăvi de îndată ce serul a fost eliminat din organism. Păsările care se găsesc, în momentul serumizării, în perioada de incubație, nu profită într-o măsură prea mare de această intervenție. Serul le poate prelungi sfîrșitul, dar nu-l poate evita. La aceste păsări se produc localizări pulmonare care duc la moartea animalului prin pneumonie pasteurelică.

Asocierea serului imun cu vaccinul antiholeric nu pare a fi indicată, deoarece, așa cum a arătat Popovici și Gogoașă (1954), serul imun împiedică instalarea imunității active la șoarece. S-ar putea ca serul imun să aibă și la păsări aceeași acțiune. Totuși Stamatin și colaboratorii (1945) așa cum s-a spus mai sus, au reușit în condiții experimentale să imunizeze găinile prin seroinfecție.

Pasteureloza bovină și bubalină
(Pasteurellosis bovum)

Arie geografică. Boala este răspîndită pe întreg pămîntul, însă, în unele regiuni, instalarea și evoluția ei fiind favorizată de unii factori climatici produce pagube economice mai importante decît altele. Astfel, ca să cităm un exemplu, în Indochina pasteureloza bovideelor este una din infecţiile cele mai păgubitoare. În R.P.R., septicemia hemoragică a bovinelor a fost se pare identificată întîi de Starcovici (1892—1893) în jurul oraşelor Huşi şi Bîrlad. Semnalări de noi cazuri au fost făcute apoi de Riegler (1903), Bădescu şi Drăghescu (1903), Jinca (1905), Alexandrescu (1907). În prezent, ea se întîlneşte frecvent în Transilvania, şi în unii ani pierderile provocate de ea depăşesc pe cele datorite antraxului (Cernea şi col., 1956). În Transilvania boala apare cel mai frecvent, în regiunile Cluj, Regiunea Autonomă Maghiară, regiunea Stalin şi mai rar sau de loc în regiunile de şes Oradea, Arad, Timişoara. Statisticile pe anii 1947 şi 1948 nu o semnalează în Oltenia şi Moldova, iar în Muntenia s-au diagnosticat cîteva cazuri numai în regiunea Piteşti.

Epizootologie. La bovine şi bubaline pasteureloza este într-o mare măsură o boală sezonieră. Spre deosebire însă de holera aviară, care îşi face apariţia o dată cu nopţile reci de toamnă şi dispare în lunile mai, iunie, iulie, infecţia la bovine este frecventă în timpul verii. După Cernea şi colaboratorii (1956), 95% din totalitatea cazurilor înregistrate în curs de 6 ani au apărut vara. Iarna, în R.P.R. boala este practic absentă, semnalizîndu-se cazuri cu totul sporadice în cursul lunilor : noiembrie, decembrie, ianuarie, februarie şi chiar martie, aprilie şi mai. Primele îmbolnăviri se semnalează în iulie, numărul lor creşte în iulie şi august, pentru ca în lunile de toamnă să se reducă treptat. Timpul cald şi umed favorizează în special apariţia infecţiei. Într-adevăr, ea apare, de regulă, la păşune, după ploaie şi are un caracter exploziv. Animalele se îmbolnăvesc unele după altele şi în cîteva zile procentul mortalităţii atinge cifre impresionante, pentru ca infecţia să înceteze, de regulă, îndată ce animalele sînt ţinute exclusiv la grajd. Pasteureloza poate apărea la bovine şi în alte condiţii. Astfel, ea se iveşte frecvent în timpul sau după un transport, mai ales dacă este făcut în rele condiţii. Acest fel de apariţie este cel obişnuit în Statele Unite ale Americii, unde boala apare de obicei în lunile umede şi reci, din noiembrie pînă în mai. Bovinele puse la îngrăşat (ţinute în grajduri umede şi hrănite exclusiv şi intens cu borhot) fac uneori forme cronice de pasteureloză, cu localizări pulmonare, care din punct de vedere anatomo-patologic se apropie de leziunile găsite în peripneumonia bovideelor. Bovinele din turme sau regiuni infectate şi care sînt purtătoare de germeni pot face forme acute de pasteureloză în urma vaccinărilor împotriva cărbunelui enfizematos, împotriva antraxului sau chiar în urma sîngerărilor. Infecţia are ca punct de plecare reacţia de la locul de inoculare a vaccinului sau locul de puncţionare a venei jugulare. Izvorul de infecţie îl constituie purtătorii de germeni. Aceştia sînt foarte frecvenţi în regiunile în care boala este enzootică. Cernea şi colaboratorii (1956) observă în acest sens că în zonele cu pasteureloză enzootică din Transilvania bovinele sînt purtătoare în proporţie de 51%, iar bubalinele în proporţie de 67%. Pasteurelele au fost găsite în aceste proporţii în amigdalele animalelor cercetate ; din fosele nazale s-au putut izola mult mai rar pasteurele — 1,7% la bovine şi 1,9% la bubaline. Important de semnalat este faptul că bovinele din regiunile indemne de pasteureloză nu sînt purătoare de pasteurele. Absenţa infecţiei este datorită deci absenţei purtătorilor. Diferitele rase de bovine sînt egal de sensibile. Bubalinele sînt însă mai receptive ca bovinele şi ele dau procentul cel mai mare de pierderi.

Simptome. Clinic se recunosc trei forme de pasteureloză : 1) forma septicemică ; 2) forma edematoasă şi 3) forma pulmonară.

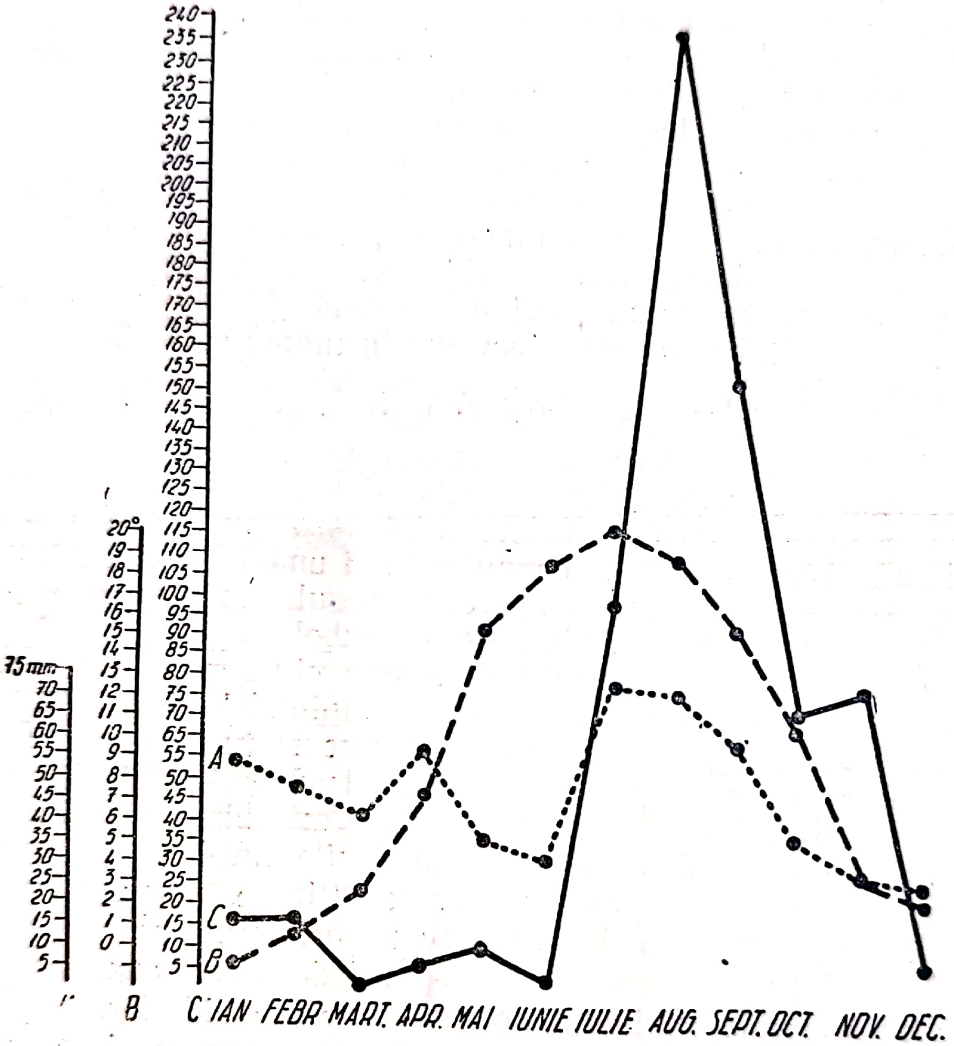


Fig. 31 — Relaţiile dintre frecvenţa cazurilor de pasteureloză la bovidee, precipitaţiile atmosferice şi temperatură (după Cernea şi col. 1956)

A — curba precipitaţiilor atmosferice; *B* — curba mediei lunare a temperaturilor; *C* — numărul cazurilor de pasteureloză

Pasteureloza septicemică se întîlneşte frecvent la bivoli, la care constituie forma obişnuită de evoluţie a infecţiei, şi, relativ mai rar, la bovine. Ea are o evoluţie rapidă şi se caracterizează prin febră de 41°C sau mai mult, însoţită de tulburări digestive (diaree, uneori hemoragică) şi pulmonare (respiraţie accelerată, bucală, sforăitoare, de tip costo-abdominal) ; moartea poate surveni în cîteva ore.

Pasteureloza edematoasă este cea mai frecventă la noi în ţară ; după Cernea şi colaboratorii (1956) din cinci cazuri de pasteureloză patru prezintă forma edematoasă și numai unul forma septicemică. Forma edematoasă se caracterizează, clinic, printr-o evoluție mai lentă ca forma septicemică și prin apariția unor edeme în țesutul conjunctiv subcutan. Regiunea în care apare edemul este foarte diferită, dar frecvent tumefacția este localizată în regiunea laringo-faringiană și mai rar la salbă, spată, picioare, articulații, vulvă. Localizarea frecventă a edemului în regiunea laringo-faringiană este probabil în legătură cu prezența germenului în criptele amigdaliene și cu pătrunderea de aici, pe cale limfatică în țesuturile învecinate. Tumoarea pasteurelică este caldă, dură, dureroasă, necrepitantă. Ceea ce o caracterizează în mod deosebit este duritatea; ea are, așa cum spun clinicienii, duritatea lemnului.

În localizarea laringo-faringiană, pe lîngă infiltrația țesutului conjunctiv subcutan se mai poate observa și un edem al limbii și al țesutului submucos bucal. În aceste cazuri, limba este tumefiată și poate atîrna afară din gură.

Tulburările respiratorii, care sînt datorite toxinei puse în libertate de

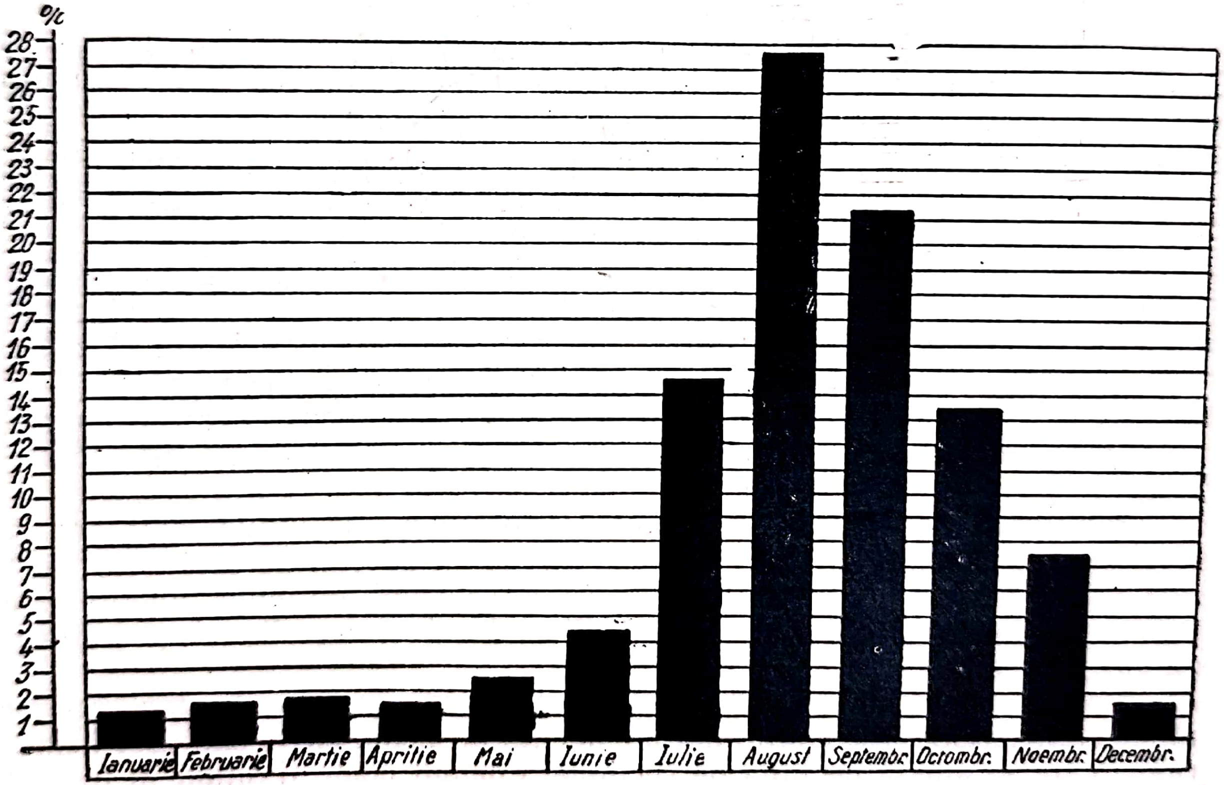


Fig. 32 — Frecvența pe luni a cazurilor de pasteureloză bovină în timp de 6 ani (1949—1955) (după Cernea și col., 1957)

pasteurele, sînt prezente în toate formele de pasteureloză, dar ele au o deosebită gravitate în localizările faringo-laringiene, cînd acțiunii toxinei i se adaugă prezența unui obstacol mecanic — edemul —, pe căile respiratorii. Temperatura, în formele edematoase, este variabilă ; uneori animalele au febră, 40—40,5°C, alteori, deși edemul este foarte mare, temperatura corporală este puțin sau de loc modificată.

Pasteureloza pleuro-pulmonară are o evoluție prelungită cronică și poate fi, fie urmarea unei forme septicemice fie a unei localizări primare consecutive pătrunderii germenului direct în pulmon.

Această formă este mult mai rar întîlnită ; ea se caracterizează clinic prin tuse, scursoare nazală, dificultăți respiratorii (dispnee) și uneori tulburări digestive, iar anatomo-patologic prin congestii și hemoragii pulmonare, exudat fibrinos în alveole, bronșite și bronșiolite, tromboza vaselor limfatice și sanguine etc. (Graham, 1953).

Alte forme de pasteureloză. S-au semnalat și alte forme decît cele trei descrise mai sus. Unii autori descriu o localizare mamară la vacile cu lapte. Infecția apare, în acest caz, întîi la un sfert și apoi trece și la celelalte sferturi glandulare. Viței care sug lapte de la vacile infectate, se pot îmbolnăvi și muri de pasteureloză.

Pasteureloza la viței

Pasteureloza la viței se manifestă prin localizări pulmonare sau intestinale. În primul caz apar simptome și leziuni care nu diferă de cele descrise la bovinele adulte. Boala se manifestă prin febră și tulburări respiratorii. La autopsie se găsesc leziuni pe seroasele pleurale și pericardică, precum și în pulmoni focare de bronhopneumonie, infiltrație masivă predominent seroasă a țesutului perilobular etc.

În localizările intestinale predomină manifestările clinice ale acestui aparat, traduse mai ales prin diaree. Fecalele eliminate sînt lichide, de culoare verzuie și exală un miros neplăcut. Animalul este febril. Moartea poate surveni în scurt timp sau după cîteva săptămîni, de regulă 21—28 de zile. În cazul unei evoluții prelungite se produce o cașectizare a animalului, deși apetitul se menține, în timpul bolii. *Pasteurella* în aceste forme, se poate izola din organe, dar este de regulă asociată cu alți germeni.

Modificări anatomice. În forma septicemică, leziunile sînt de tip congestiv și hemoragic. Hemoragii se găsesc în special pe seroasele pleurale și pe pericard. Splina are uneori dimensiuni normale, alteori este mărită în volum și chiar noroioasă. Ficatul este congestionat și infiltrat cu elemente albe.

Edemele pasteurelice, situate în țesutul conjunctiv subcutan, nu au nimic caracteristic. Ele conțin din abundență un lichid citrin sau ușor hemoragic, care se adună pe linia de secțiune. Edemul poate fi situat în țesutul conjunctiv subcutan, dar poate trece de aici în regiunile musculare adiacente. În acest caz țesutul conjunctiv intramuscular este edemațiat, prezintă din loc în loc zone hemoragice, iar mușchii sînt degenerați și au aspectul cărnii fierte. Edemul local este însoțit de leziuni generale congestive și hemoragice ; în jurul marilor vase se găsesc multiple sufuziuni sanguine. Ganglionii, aferenți leziunii edematoase locale, sînt măriți de volum, mustoși, edemațiați și hemoragici. Cavitatea pleurală conține cantități importante de lichid și depozite de fibrină. Pleura este constant îngroșată, de culoare albă, opacă (pleurită fibrinoasă). Toată masa intestinală este congestionată cu vasele injectate. Mucoasa tubului digestiv poate fi congestionată și chiar hemoragică.

În forma pectorală, leziunile sînt localizate la pulmoni și seroasele adiacente, și variază în raport cu durata bolii. În unele cazuri se descoperă, la autopsie, zone de hepatizaţie, alteori focare necrotice de coagulare, cu hipertrofia masivă a ţesutului conjunctiv interlobular. Pe seroasele pleurale, ca și pe cele ale cordului, se pot găsi depozite de fibrină. Tromboza vaselor, pulmonare — artere, vene și vase limfatice — este frecvent întîlnită (Graham, 1953).

Diagnostic. Forma septicemică se poate confunda clinic cu antraxul. De asemenea, forma edematoasă se aseamănă cu antraxul cu edeme externe, precum şi cu cărbunele emfizematos. În pasteureloză însă, bătăile cordului nu au sunet metalic, ceea ce deosebeşte această infecţie de antrax, iar edemul nu conţine gaze, nu este crepitant, ceea ce o distinge de cărbunele emfizematos.

Pasteureloza pulmonară se deosebeşte de peripneumonia bovideelor prin lipsa de contagiozitate evidentă.

Examenul bacteriologic permite diagnosticul precis al infecţiei şi deosebirea ei de alte boli microbiene. Însămînţările din materialul patologic suspect, mai ales, de pasteureloză cronică este recomandabil să fie făcute pe medii cu ser.

Hematologic, după Benjamin (1953), bovinele bolnave de pasteureloză prezintă o creștere a numărului limfocitelor și eritrocitelor și o scădere a leucocitelor totale; leucopenia privește neutrofilele segmentale, metamielocitele și în special eozinofilele. Acestea se reduc de la 3,90% (medie pe 100 animale normale), la 0,61% (medie pe 218 animale bolnave).

Profilaxie şi tratament. Unele măsuri pot preveni apariţia bolii, sau, dacă a apărut, pot evita pierderile prea însemnate. Astfel, în cazul izbucnirii bolii într-o cireadă, trecerea animalelor de la păşune la grajd opreşte adeseori apariţia unor noi cazuri. Întreruperea păşunatului aduce perturbaţii în muncă și pierderi economice, de aceea, în regiunile în care boala apare cu regularitate vara, este recomandabilă o imunizare activă. In cazul cînd boala a apărut, animalele vor fi ţinute la grajd şi imunizate activ în acest interval de timp. Se folosesc pentru imunizare, de cele mai multe ori, suspensii de germeni omorîţi prin căldură sau formol. Culturile în bulion, care urmează a fi inactivate, în vederea preparării vaccinului, nu trebuie să fie mai vechi de 24 de ore. Prin învechire, culturile se îmbogăţesc în principii toxici, care nu sînt inactivate prin căldură şi nici prin formol şi care pot produce accidente la unele animale, chiar cînd vaccinul este injectat pe cale subcutană. Într-adevăr, în unele cazuri se observă 1 oră, sau chiar mai puţin, după injectare, o accelerare a ritmului respirator, animalul devine neliniştit şi apoi cade jos. Respiraţia este bucală, sforăitoare, ochii injectaţi etc., totul simulînd un şoc anafilactic. În marea lor majoritate animalele se remit însă complet din această stare aparent foarte gravă.

Vaccinurile moarte, după indicaţiile practicienilor, dau rezultate satisfăcătoare în imunizarea activă a bovinelor. Ungureanu (1950) a verificat experimental valoarea acestor vaccinuri. În acest scop, autorul a vaccinat patru viței în condiții obișnuite de teren, adică fiecare vițel a fost inoculat de două ori, la 7 zile interval, respectiv cu 5 și 10 ml de vaccin. 12 zile după ultima injecție cei patru viței, plus doi viței-martor, sînt infectați pe cale subcutană cu o tulpină de pasteurelă foarte virulentă și recent izolată de la porc. Viței vaccinați și un martor primesc cîte 1 ml de cultură în bulion de 24 de ore, iar al doilea martor, 0,001 ml din aceeași cultură. Rezultatul a fost următorul: toți vițeii vaccinați au rezistat, prezentînd reacții febrile trecătoare și o ușoară tumefacție la locul de inoculare. Vițelul-martor injectat cu 1 ml, de cultură a murit în 36 de ore, iar cel inoculat cu 0,001 ml în 68 de ore. Ambii viței au prezentat, la autopsie, leziuni tipice de pasteureloză, iar *Pasteurella* a fost izolată din toate organele. Vaccinurile moarte, așa cum reiese din aceste date, dau deci, chiar în condiții experimentale severe, rezultate bune, ele protejînd animalul față de o infecție făcută cu cel puțin 1 000 de doze minime mortale.

Unii cercetători nu sînt însă satisfăcuți de asemenea vaccinuri, afirmînd că ele dau o imunitate puțin apreciabilă. Lichidele din edeme, nu sînt superioare din acest punct de vedere suspensiilor de germeni morți. Delpy (1952) afirmă că a obținut o imunizare solidă a bovideelor prin injectarea unui vaccin saponinat. Pentru prepararea acestui vaccin se folosesc culturi de pasteurelă bovină virulentă care sînt amestecate cu saponină Poulenc în proporție de 5%. Germenii sînt lizați în amestec în mai puțin de 48 de ore. Lizatul constituie un bun vaccin. În doză de 1—2 ml el conferă bovinelor o imunitate care le pune la adăpost față de o infecție făcută cu 50 de doze mortale de cultură virulentă. Un asemenea vaccin a fost aplicat în practică, în Iran, preparîndu-se în intervalul 1938—1946, 800 000 de doze. Rezultatele pe teren au fost satisfăcătoare. Experimental s-a putut stabili că imunitatea durează peste 1 an. Proprietățile saponinei influențează într-o mare măsură valoarea vaccinului și unii autori nu au obținut rezultate satisfăcătoare folosind o saponină purificată, fabricată de casa Merck.

Gazarean și Pogosean (1949) imunizează solid bovinele prin injectarea pasteurelelor omorîte prin bilă. Vaccinul este asociat cu saponină. Această din urmă substanță se injectează subcutan, cu 90 de minute înainte de inocularea vaccinului, sau o dată, și în amestec cu vaccinul, în doză de 1 ml dintr-o soluție 3%. Doza de vaccin folosită a variat de la o experiență la alta de la 5 la 20 ml. O singură injecție conferă animalelor o rezistență care le pune la adăpost față de o infecție experimentală foarte severă. Bovinele injectate de două sau trei ori rezistă față de infecția făcută cu 1 000 de doze minime mortale.

Vaccinurile saponinate nu pot fi aplicate în prevenirea pasteurelozei la alte specii de animale din cauza sensibilității acestora față de acțiunea toxică locală (necroză) sau generală a saponinei.

Serul imun este folosit în prevenirea ca și în tratamentul pasteurelozei bovine. El se poate obține de la caii sau boii care au fost vaccinați întîi cu culturi moarte (două injecții la 1 săptămînă interval) și apoi, în repetate rînduri, cu culturi virulente de pasteurelă bovină, după un procedeu asemănător celui urmat în prepararea serului antiholeric. Se poate prepara pe boi sau cai cu ser monovalent, injectîndu-se la animale, în vederea hiperimunizării lor, un antigen constituit exclusiv din culturi de tip mamifer. Institutul „Pasteur" prepară un ser polivalent, folosind drept antigen culturi tinere, provenind din tulpini de tip aviar și mamifer. Amestecul de culturi se injectează în cea mai mare parte pe cale subcutană. Injecțiile, pe aceste două căi, subcutană și intravenoasă, măresc conținutul serului în principii antibacterieni. Într-adevăr, un ser preparat exclusiv prin injecții subcutane de antigen are pentru șoarece o valoare protectoare mai mică decît serul provenind de la animalele care au primit antigenul pe cale subcutană și intravenoasă.

Activitatea preventivă a serului antipasteurelic, preparat în țara noastră, a fost verificată prin aplicări la bovine. S-a putut constata că în condiții experimentale doza de 20 ml de ser previne o infecție simultană făcută cu cel puțin 1 000 de doze minime mortale de cultură (Ungureanu, 1950).

În practică, o doză de 20 ml pune la adăpost bovinele față de o infecție pasteurelică spontană. Dozele terapeutice variază în raport cu gravitatea cazului. Prima injecție trebuie făcută cu 50—100 ml. Este recomandabil ca dozele să fie mai mici, și repetate la intervale scurte, decît mari și unice. Se observă, într-adevăr, că unele bovine cărora li s-a ameliorat considerabil starea generală prin administrarea serului imun prezintă, chiar după cîteva ore, din nou simptome alarmante. La aceste animale se repetă injecția de ser. Animalele bolnave vor fi deci supravegheate îndeaproape și li se va inocula ser de îndată ce prezintă o înrăutățire a stării generale. Este de semnalat însă că animalele cu forme externe de pasteureloză, cu edeme întinse, nu pot fi salvate nici prin ser, nici prin sulfamide.

Jacotot (1940) prepară un ser activ pe bovine tinere, după un procedeu propriu. Astfel, autorul administrează animalelor, întîi per os, cîte 500 ml dintr-un amestec compus din 2 părți apă și 1 parte triturat de edem, rinichi, splină și ficat de la un vițel infectat experimental și mort cu infecție pasteurelică. Apoi, succesiv, sub piele, la intervale de 1 săptămînă, 1 ml, 50 ml, și 400 ml de cultură de *Past. bovis,* suspensie de pe agar în ser fiziologic. Serul monovalent, obținut de la animalele astfel tratate, previne la viței în doză de 10 ml pe timp de 1 lună, o infecție experimentală gravă, aplicat simultan sau scurt timp după infecție, el împiedică dezvoltarea unei infecții mortale la un procent important de animale. În practică, în doze de 10—30 ml, serul preparat de Jacotot previne infecția timp de 2—4 săptămîni. Valoarea sa curativă este însemnată; doza terapeutică 50—150 ml.

Chimioterapia. Sulfamidele, în special sulfatiazolul și sulfamerazina, au dat rezultate bune în tratamentul pasteurelozei bovine. Ele se administrează, în acest scop, animalelor bolnave în doze variabile după gravitatea cazului (0,1—0,15 pe kilocorp și în 24 de ore). Tratamentul durează 2—3 zile. Sulfamerazina poate înlocui, după unii autori, serul imun, în tratamentul septicemiei hemoragice la bovidee. Bronhopneumonia viteilor este și ea justițiabilă de un tratament sulfamidic. Unii clinicieni relatează că au obținut rezultate bune în aceste cazuri administrînd în prima zi 15 g de soluseptazină, pe cale intravenoasă, plus 10 g de sulfamidă albă pe cale bucală și apoi, 5 zile la rînd, cîte 10 g de sulfamidă albă pe cale bucală. După Roberts (1953), penicilina în doză de 1 milion U.I. pe zi şi repetată timp de 3—4 zile, ca şi streptomicina în doză de 3—5 g pe zi, administrată odată sau de două ori pe zi, timp de cîteva zile, dau rezultate în tratamentul pasteurelozei la bovine.

Pasteureloza calului
(Pasteurellosis equorum)

Infecţii pasteurelice primare sînt rare la cal, dar nu total absente. Stamatin şi colaboratorii (1955) au descris, de exemplu, un focar de pasteureloză apărut într-un sat din Regiunea Autonomă Maghiară. În 2 zile (9 şi 10 iulie), au murit, în curţi diferite, patru cai. Boala a durat 8—12 ore. Animalele au prezentat în timpul vieţii febră (41—41,5°C), anorexie totală, respiraţie dispneică, jetaj seros, puls accelerat, diaree. Moartea a fost precedată de fenomene asfixice grave. La autopsie s-a constatat o uşoară balonare, cianoza mucoaselor aparente, congestia mucoasei laringo-faringiene şi a mucoasei traheale, edem şi congestii pulmonare, sufuziuni şi echimoze pe epicard şi endocard, degenerarea muşchiului cardiac, lichid citrin şi uşor sanguinolent (1 500—2 000 ml) în cavitatea peritoneală; ficatul, vezica urinară şi rinichii congestionaţi, splina normală, mucoasa stomacală congestionată, hemoragii pe mucoasa intestinului subţire. Din sînge şi organe s-a izolat o pasteurelă de tip mamifer, patogenă pentru şoarece (10^{-8}ml), dar nepatogenă pentru porumbel.

În gospodăriile mixte, cu bovine şi cabaline, şi în care boala apare la bovine, se pot întîlni şi cazuri la cabaline.

Pasteurella a mai putut fi izolată şi din leziunile cailor morţi cu simptome şi leziuni de febră tifoidă *(Influenta equorum)* de către Babeş şi colaboratorii (1889) care au identificat primii germenul în aceste leziuni, şi l-au considerat ca agentul etiologic al afecţiunii. Mai tîrziu s-a demonstrat că febra tifoidă a cailor este produsă de un virus filtrabil şi că pasteurela sau streptococul, care se pot izola de la aceste animale, sînt germeni de infecţie secundară. Pleuropneumonia cailor a fost considerată iniţial tot ca o pasteureloză, dar mai tîrziu s-a dovedit că ea este produsă de un virus.

Pasteureloza poate apare la cai şi în urma transporturilor lungi, făcute cu trenul sau vaporul (Viselevski şi Mazel, 1936).

În concluzie, pasteureloza la cal poate evolua ca o infecţie primară sau secundară. Infecţiile primare apar în timpul verii, în regiunile umede, în care pasteureloza este frecventă şi la alte mamifere — porcine şi bovine. În comparaţie cu bovinele, procentul de morbiditate este mult mai redus.

Pasteureloza porcului
(Pasteurellosis suum)

Pasteureloza la porc, de cele mai multe ori, este o infecţie condiţionată. Ea complică frecvent pesta porcină, aşa cum se pare că au arătat încă de mult Starcovici și Riegler (1894), Corbeanu (1896)[1], gripa infestațiile parazitare ale pulmonului sau se grefează pe diverse stări patologice, cum sînt avitaminozele, răceala, epuizarea organică datorită transportului pe cale ferată sau pe vapor, îngrămădirea în spații restrînse etc. Operațiile de vaccinare favorizează în mod particular izbucnirea bolii. În instituțiile pentru prepararea serului antipestos porcin boala poate apare în urma injecțiilor cu sînge pestos virulent. Germenul singur, deși prezent în organism, este în majoritatea cazurilor inofensiv. Asociat cu alți factori el devine activ și dezlănțuie infecția. Aceasta însă nu îmbracă, de regulă, caracter epizootic: ea rămîne localizată într-o crescătorie sau într-un sat. Capacitatea de extindere este redusă, pierderile pot fi însă, în unii ani, foarte mari, depășind pe cele produse de pesta porcină sau de rujet.

Pe teren, adeseori s-au semnalat infecții pasteurelice în urma diverselor operații de vaccinare, în special după serovirulizarea sau vaccinarea antipestoasă și mai rar după vaccinarea antirujetică. Explicarea acestor accidente nu a fost totdeauna posibilă. Este probabil că în unele cazuri vaccinul activează o pasteureloză latentă. Vaccinul antipestos, adsorbit pe hidroxid de aluminiu, de exemplu, exercită o acțiune depresivă importantă asupra organismului și probabil o alterare a funcțiunilor pulmonare, ca o consecință a modificărilor histologice ce se produc în acest organ consecutiv vaccinării antipestoase: proliferarea elementelor din pereții alveolari și o infiltrație cu polinucleare și monocite (Șerbănescu și Solniski). Aceste modificări, probabil pot înlesni fixarea pasteurelelor în pulmon și duce astfel la acutizarea unor pasteureloze latente. Alteori asemenea accidente sînt datorite transmiterii infecției prin acul seringii. S-a dovedit experimental că înfigînd întîi acul într-un edem pasteurelic și apoi într-un porc sănătos, acesta din urmă face o pasteureloză acută, avînd ca punct de plecare locul în care s-a introdus acul infectat. Acest fapt nu este de mirare, dată fiind virulența, uneori extraordinară, a germenului.

Simptome. Pasteureloza la porci poate evolua acut, septicemic, fără localizări, precum și subacut sau cronic, și atunci cu localizări în țesutul conjunctiv subcutan — edeme — sau, de cele mai multe ori, în pulmon.

Forma septicemică evoluează repede, de la cîteva ore la 1 sau 2 zile. Simptomele sînt puțin caracteristice și ele constau în febră de 41°C sau mai mult, tulburări respiratorii, dispnee gravă, lipsă totală de poftă de mîncare, zone cianotice pe piele care nu dispar la presiune etc. Animalul prezintă o respirație accelerată de tip abdominal foarte probabil datorită fixării toxinei pasteurelice pe endoteliul alveolar, tulburările fiind consecința acestei fixări. Tulburările respiratorii sînt într-o oarecare măsură, caracteristice acestei infecții și prezintă o deosebită importanță în stabilirea diagnosticului clinic.

Formele subacute sau cele cronice, cu localizări pulmonare, sînt de cele mai multe ori urmarea unei infecții de tip septicemic. Germenii, care în faza septicemică sînt prezenți în sîngele circulant, se localizează în pulmon atunci cînd animalul rezistă acestui prim asalt. Localizarea pulmonară poate fi însă și primară precedată de o formă septicemică, clinică. Simptomele sînt în relaţie cu gradul de lezare a pulmonului şi constau din febră, scurgere nazală şi tulburări respiratorii. Tusea se poate observa atunci cînd porcul este forţat să meargă. Sfîrşitul bolii este variabil. În unele cazuri animalul moare după cîteva zile, iar în altele, leziunea pulmonară nu ia o extindere care să-i compromită viaţa. Se constituie în acest caz, o leziune pulmonară mai mult sau mai puţin întinsă, care poate conţine pe lîngă pasteurele şi alţi germeni, cum sînt bacilul piocianic, *Proteus vulgaris, Corynebacterium pyogenes* (bacilul lui Grips), stafilococi, streptococi etc. Toxinele puse în libertate de bacteriile din pulmon difuzează în organism şi pot să caşectizeze animalul. Acesta slăbeşte de la o zi la alta şi tuşeşte la cea mai mică sforţare. Animalul poate muri, dar deseori el rezistă luni de zile, constituind un balast în crescătorie. Este recomandabil ca asemenea bolnavi să fie sacrificaţi.

---

[1] Corbeanu dă o descriere exactă a germenului izolat de la porci cu pneumonie, care poate fi idenitficat astfel sigur ca o posteurelă.

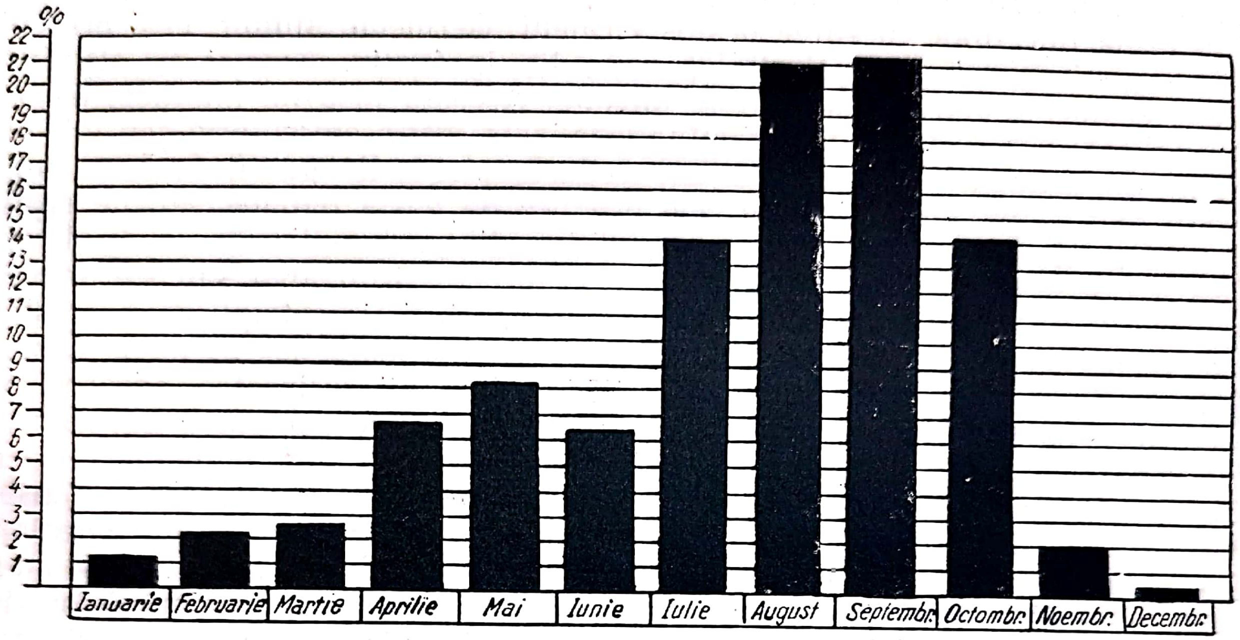


Fig. 33 — Frecvenţa pe luni a cazurilor de pasteureloză porcină

Localizările în ţesutul conjunctiv subcutan sînt mai rare la porc decît la bovidee. Se observă, uneori, ca o consecinţă a pătrunderii germenilor din amigdale, edeme pasteurelice situate în regiunea faringo-laringiană, şi care pot coborî în cursul bolii pînă în regiunea substernală. În aceste cazuri infecţia poate să aibă o evoluţie rapidă şi animalul să moară în cîteva ore.

Pasteurelele, la autopsie, se pot găsi numai în edem sau pot fi prezente atît în edem, cît şi în sînge.

Modificări anatomice. În formele septicemice, leziunile sînt de tip congestiv şi hemoragic. Hemoragiile se pot observa pe piele, în ţesutul conjunctiv subcutan, pe seroase, rinichi, splină şi mucoasa intestinală. Pulmonul este edemaţiat şi prezintă o infiltraţie şi o distensiune a ţesutului conjunctiv interlobular. Hemoragiile de pe rinichi sînt punctiforme şi seamănă cu cele produse de virusul pestei. Cavitățile seroase conțin lichid citrin în abundență. Ganglionii limfatici sînt edemațiați, suculenți, uneori hemoragici.

În localizările pulmonare de origine hematogenă, care urmează deci unei septicemii, leziunile sînt variate ca aspect și situate, de regulă, la lobii apicali. Uneori însă inflamația poate cuprinde și lobii cardiaci și chiar părți importante din lobii diafragmatici. În formele incipiente se observă hepatizarea lobilor anteriori la unul sau la ambii pulmoni. Pulmonul, în această regiune, este roșu-vișiniu. Alveolele pulmonare, în formele incipiente, își păstrează histologic forma ; lumenul alveolar este plin cu lichid și elemente albe, în special polinucleare. Mai tîrziu organul pierde structura sa normală și polinuclearele sînt înlocuite cu elemente conjunctive. Țesutul conjunctiv interlobular, ca și pleura, prezintă infiltrații predominent seroase.

Zona de hepatizare este mărginită de o zonă în care pulmonul conservă culoarea normală. Se observă însă și în această zonă o infiltrație seroasă și cu celule a țesutului conjunctiv interlobular. Acesta poate atinge o grosime de 1—2 mm sau chiar mai mult și el separă net lobulii între ei, dînd pulmonului un aspect caracteristic.

În infecțiile aerogene, leziunile se dezvoltă în jurul bronhiilor, sub formă de focare diseminate de bronhopneumonie.

În formele pulmonare vechi, zona de hepatizare suferă o necroză de coagulare. Zona necrozată are o culoare galbenă-cenușie. Pe suprafața de secțiune a unei asemenea zone se observă focare roșii hemoragice, înconjurate de o masă de țesut cenușiu. Acesta poate fi difluent, se poate scurge sau elimina prin bronhii, lăsînd în urmă o cavernă. Membrane fibrinoase se observă pe seroasele pleurală și pericardică. Seroasele cardiace pot adera și în acest caz pericardul se desprinde cu greutate de pe cord.

În localizările din țesutul conjunctiv subcutan se observă o infiltrație a regiunii cu o serozitate de culoare cenușie, opalescentă sau hemoragică, precum și cu elemente albe.

O formă gastrointestinală a pasteurelozei, caracterizată clinic prin diaree profuză sau hemoragică, iar anatomo-patologic prin catar sau chiar hemoragii ale mucoasei gastrice și intestinale, a fost descrisă de Andreev. Conținutul intestinal este în această formă și în unele cazuri, hemoragic.

Diagnostic. Diagnosticul pasteurelozei porcului întîmpină dificultăți uneori de neînvins pentru practician. Infecția poate evolua independent de alte infecții, dar se poate asocia cu gripa, boala lui Aujeszky și mai ales cu pesta porcină. În primul caz ea este o infecție primară, iar în al doilea caz pasteureloza este secundară. Deosebirea unei forme de cealaltă este esențială pentru prescrierea măsurilor potrivite de combatere, iar această diferențiere nu se poate face decît coroborînd datele clinice, epizootologice și de laborator

Clinic, predominența manifestărilor pulmonare la animalele bolnave este un indiciu de pasteureloză. Epizootologic, apariția spontană a bolii, lipsa de contagiozitate evidentă printre animalele aceluiași efectiv, pledează la fel pentru pasteureloză, pesta fiind o infecție de contact și transmițîndu-se cu repeziciune la animalele receptive ale aceluiaşi efectiv. Modificările anatomice nu ne permit totdeauna să distingem o pasteureloză primară de pestă. Leziuni hemoragice pe seroase şi în diverse organe (rinichi, splină) şi chiar leziuni intestinale se pot găsi în ambele infecții. Leziunile necrotice intestinale, este drept, lipsesc în pasteureloză, însă ele nu se găsesc nici în formele supraacute de pestă, care, în special, pot fi confundate cu pasteurelozele acute.

Izolarea pasteurelei şi cercetarea patogenității ei în laborator nu permit diferențierea cu precizie a formelor primare de cele secundare, germeni de virulență plină, putîndu-se izola din ambele forme. Totuşi, este de remarcat că tulpini de mare virulență se izolează aproape constant din formele primare şi numai uneori din cele secundare. Prezența în organe a speciei *Salmonella suipestifer*, alături de *Pasteurella*, este o indicație că pasteureloza este asociată cu pesta. Prezența sau absența virusului pestos ca agent morbid, alături de pasteurelă, nu poate fi precizată uneori decît prin inocularea filtratului de organe la porcii receptivi. Se exclude pesta atunci cînd filtratul este inofensiv. Această metodă de diagnostic diferențial prezintă însă inconveniente: în primul rînd este costisitoare; în al doilea rînd cere instalații speciale de izolare şi o aprovizionare cu purcei receptivi, şi în al treilea rînd, rezultatul întîrzie de la 5 la 6 zile pînă la 3 săptămîni, ceea ce îl face inoperant din punct de vedere practic. În laboratoare şi clinici bine organizate se pot face şi alte operații în vederea diagnosticului diferențial între pestă şi pasteureloză. În timpul vieții, leucograma ne dă indicații uneori prețioase. Astfel, în pestă, aşa cum a arătat printre alții Wynohradnyk, se observă constant o leucopenie. În pasteureloză, dimpotrivă, există o leucocitoză, o mărire a numărului globulelor albe. Leucopenia ne indică pesta, leucocitoza de obicei pasteureloza. Formele primare de pestă sau pasteureloză pot fi diagnosticate, printr-o numărătoare de globule albe. În pestă, numărul lor scade pînă la 6 000, 5 000 şi chiar 3 000, în pasteureloză acest număr poate fi de 30 000, 50 000 şi chiar mai mult. Formele mixte de pasteureloză şi pestă sînt probabil mai greu de diferențiat prin leucogramă. Leziunile histologice în formele de pestă, fără complicații pasteurelice, sînt caracteristice acestei infecții, ceea ce permite diferențierea ei de pasteureloză. În pulmon, în caz de pestă pură, se găsesc focare hemoragice, necrotice, o reacție macrofagică importantă, dar lipsesc polinuclearele. În pasteureloză, dimpotrivă, se constată o invazie masivă de lichide şi polinucleare în pereții alveolelor şi în lumenul lor. Absența polinuclearelor din leziunile pulmonare confirmă pesta şi exclude pasteureloza. Prezența polinuclearelor şi a edemului alveolar confirmă pasteureloza, dar nu exclude pesta.

Formele supraacute de rujet se pot confunda clinic cu pasteurelozele. Anatomo-patologic cele două infecții se pot uneori uşor distinge. Astfel, în caz de pasteureloză, sînt prezente aproape constant, leziuni pulmonare şi pleurale, ca edemul țesutului conjuctiv interlobular, inflamația pulmonului şi a pleurei, în timp ce aceste leziuni lipsesc în infecția rujetică. Antraxul, localizat în regiunea laringo-faringiană, se poate confunda clinic şi anatomo-patologic cu pasteureloza. Diagnosticul diferențial precis se face prin examenul bacteriologic al leziunii și ganglionilor limfatici aferenți, care, în mod obligatoriu, trebuie trimiși în asemenea cazuri la laborator.

Gripa poate fi confundată cu pasteureloza, mai ales cînd aceasta din urmă evoluează la animale tinere, receptive la virusul gripal. Leziunile pulmonare sînt însă relativ ușor de diferențiat. În gripă se produce, de regulă, o pancreatizare a organului, iar în pasteureloză, de obicei, o hepatizare.

Leziunile pulmonare necrotice, produse de *Pasteurella,* pot fi confundate cu cele ce se găsesc în piobaciloza porcului. În această din urmă infecție, provocată de *Corynebacterium pyogenes* și întîlnită la purceii tineri, leziunea este de tip purulent și nu sero-fibrinos și necrotic ca în pasteureloză. Bacilul piogen poate invada focarele necrotice din pulmon produse de *Pasteurella.* În acest caz, în frotiuri predomină germenii Gram pozitivi. În culturi însă se dezvoltă *Pasteurella* și numai rar grupe aglutinate de bacili piogeni, Gram pozitivi.

Profilaxie și tratament. La porc, profilaxia pasteurelozei, se face, de cele mai multe ori, prin măsuri igienice și sanitare. Înlăturarea cauzelor ajutătoare, precum și izolarea porcilor bolnavi pot opri apariția noilor cazuri de boală. Pentru a evita izbucnirea unei pasteureloze într-un efectiv în care condițiile sînt favorabile apariției acestei boli, cum și pentru a opri extinderea infecției, în cazul cînd boala a apărut, se poate recurge la vaccinuri, seruri imune sau substanțe medicamentoase.

Vaccinurile folosite curent pentru imunizarea activă a porcilor sînt constituite din suspensii de pasteurele omorîte prin formol sau căldură. Germenii se cultivă în bulion. Cultura nu trebuie să fie mai veche de 24—48 de ore. Tulpinile trebuie să fie de origine porcină și aviară, deoarece unele epizootii pot fi provocate și de tulpini aviare.

Vaccinul se injectează pe cale subcutană. Rezultatele sînt uneori bune, mai ales cînd animalele în momentul vaccinării nu sînt purtătoare de germeni și nu au leziuni cronice de pasteureloză. Durata imunității e scurtă, 1—2 luni.

În condiții experimentale s-au folosit pentru imunizarea activă germeni vii și atenuați, agresine constituite din lichidele din edemele pasteurelice, sterilizate prin căldură 3 ore la 44°C, cu adăugare de fenol 0,5%, sau chiar germeni virulenți, dar aceste vaccinuri nu au fost introduse în practică, deși rezultatele de laborator au fost satisfăcătoare. Ungureanu (1950) și Ungureanu-Gogoașă (1951—1952) au obținut rezultate pozitive cu culturi formolate. Hidroxidul de aluminiu nu pare a mări sensibil valoarea antigenică a anaculturilor.

Serul imun, preparat pe cal, bou sau porc, poate fi folosit atît la prevenirea, cît și la tratamentul pasteurelozei porcilor. Atît pentru prevenire, cît și pentru tratament trebuie folosit un ser mixt, preparat cu tulpini porcine și aviare.

Valoarea curativă și chiar preventivă a serului imun este redusă.

Andreev recomandă ca administrarea serului să fie urmată de injecții cu culturi virulente, în vederea obținerii unei imunități active. Cultura se inoculează cîteva zile după ser. După autor, rezultatele sînt bune, animalele astfel inoculate, căpătînd o imunitate solidă.

Chimioterapie. Zarubin a obţinut rezultate bune în tratamentul pasteurelozei porcilor cu novarsenol. Produsul administrat pe cale intravenoasă, în doze variabile după vîrstă şi greutate, poate vindeca pînă la 99% din porcii bolnavi. Dozele folosite de autor au fost:

0,6 g pentru porci mai mici de 5 luni;
0,8 — 1 g pentru cei în vîrstă de 5 — 12 luni;
1,5 pentru cei mai mari de 1 an.

Doza indicată se solubilizează în 10 ml de apă distilată. Ea se poate repeta după 5—10 zile. Vindecarea se produce în 5—10 zile.

Sulfamidele au fost folosite cu rezultate bune în tratamentul pasteurelozei la porci. Doza activă, după indicaţiile terapeutice generale, este de 0,06—0,12 g pe kilocorp şi în 24 de ore. Această doză se poate administra o singură dată pe cale bucală, sau, mai bine, pe cale parenterală. De asemenea, penicilina şi mai ales streptomicina pot fi folosite cu succes în tratamentul infecţiei pasteurelice la porc.

Pasteureloza la oaie
(Pasteurellosis ovium)

Arie geografică. Infecţia era, se pare în trecut, destul de frecvent întîlnită în unele regiuni din Europa, ca Franţa, Belgia, Islanda, precum şi în unele ţări extraeuropene ca S.U.A., Argentina, Africa de Sud etc.

Ghenev (1936) a semnalat-o în Bulgaria într-o regiune de pe malul Mării Negre. Infecţia a cuprins 11 turme, cu un efectiv de 3 531 de oi şi 1 813 miei; dintre aceste animale s-au îmbolnăvit 428 de oi şi 92 de miei. Procentul de mortalitate, printre animalele bolnave a fost mare (316 oi moarte din 428 îmbolnăvite, ceea ce reprezintă un procent de mortalitate de 73,8%, şi 24 de miei din 92 îmbolnăviţi, adică 26,0%).

În S.U.A., pasteureloza are o evoluţie gravă, mai cu seamă la miei, la care procentul de morbiditate şi mortalitate este destul de ridicat. În Germania, în sudul Franţei, în Argentina, pasteureloza provoacă pierderi importante oviculturii. De asemenea boala este frecventă în Sudanul Francez (Curason şi Didier, 1932). În R.P.R. ea este puţin răspîndită. S-au semnalat totuşi, în vara anului 1950, infecţii cu caracter enzootic mai cu seamă la miei. O tulpină, izolată din una din aceste enzootii, era de tip aviar.

Date epizootologice. Pasteureloza la oi este de cele mai multe ori o boală condiţionată (Marsh, 1953). Ea apare la animale rău alimentate şi ţinute în condiţii igienice necorespunzătoare, precum şi la animale care sînt transportate cu trenul sau vaporul pe distanţe mari. Newsom şi Cross (1923) semnalează că în cursul unui transport din 3 000 de miei au murit 116, găsindu-se la autopsie leziuni pulmonare, din care s-a izolat adeseori, dar nu totdeauna, *Pasteurella*. Primăverile ploioase favorizează apariţia infecţiei. Schimbarea modului de viaţă poate de asemenea înlesni instalarea bolii. Se citează astfel apariţia enzootiilor de pasteureloză după introducerea oilor de la păşune în grajduri pentru iernat.

Purtătorii de germeni au fost identificaţi de diverşi cercetători. Rotov (1953), de exemplu, găseşte un procent de 40% cercetînd prezenţa purtătorilor printre ovinele unei regiuni cu multă pasteureloză la diverse specii animale. Rezultate asemănătoare au fost obţinute şi de alţi cercetători (Marsh, 1953). S-au izolat de asemenea pasteurele din focarele de bronhopneumonie descoperite la oile sacrificate în abator. În general, germenul este prezent, în proporţii însemnate, la oile care provin din turme în care boala este enzootică şi lipseşte din pulmonii oilor, din turme şi regiuni indemne de pasteureloză. Se pare însă că germenii izolaţi de la oi nu fac parte din specia *Past. animalium,* ci din specia *Past. haemolytica (romanica),* ei fiind hemolitici (Schmith, 1955, Stamp şi col. 1955).

În condiţii experimentale infecţia pasteurelică la ovine, cu tulpini izolate de la oaie, în general nu reuşeşte, ceea ce arată caracterul condiţionat al bolii. Oile, cel puţin cele din R.P.R., prezintă o însemnată rezistenţă faţă de pasteurele, şi în consecinţă, suportă doze însemnate de germeni pe cale subcutană. Astfel, tulpini foarte virulente de tip aviar sau mamifer, inoculate pe cale subcutană, în doză de 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore, produc doar o uşoară tulburare a stării generale şi o ascensiune termică. Aceste tulburări dispar de regulă în 24 de ore.

Clinic şi anatomo-patologic se disting la ovine forme septicemice, edematoase şi pulmonare. Formele septicemice şi cele edematoase evoluează acut şi se caracterizează clinic prin febră de 41°C, şi chiar mai mult; în plus, animalul este abătut, prezintă colici, diaree şi tulburări respiratorii. Edemul, în formele edematoase, este situat la cap sau gît. Animalul moare în cîteva zile, prezentînd la autopsie leziuni congestive şi hemoragice. Ganglionii limfatici sînt măriţi ca volum, iar mucoasele sînt congesionate. Splina este normală. În pulmon se pot găsi focare de bronhopneumonie, înconjurate de zone în care se observă o infiltraţie şi o distensie a ţesutului conjunctiv interlobular. Formele pulmonare au o evoluţie mai lungă şi se asociază, de regulă, cu infestaţiile verminoase; sub această formă afecţiunea se manifestă prin tulburări respiratorii, tuse, scurgere nazală şi oculară muco-purulentă. În cele din urmă, animalul se caşectizează şi moare. La autopsie, leziunile sînt situate în cavitatea toracică. Pleura este îngroşată; în pulmon sînt prezente zone de hepatizare sau de necroză. Diagnosticul se face prin examenul de laborator, bacteriologic şi anatomo-patologic.

S-au descris şi forme pulmonare care evoluează ca o pneumonie acută. Localizări mamare şi mamite pasteurelice au fost descrise de Marsh (1932) în S.U.A., unde boala, sub această formă, produce pagube însemnate. Procentul de morbiditate, în turmele infectate, este de 3—4%, iar procentul de mortalitate al oilor îmbolnăvite este de 15%. Infecţia se face prin canalul galactofor şi poate rămîne localizată, dar uneori se generalizează, producînd focare miliare în pulmon, dar nu pneumonii caracteristice infecţiei pasteurelice. Marsh consideră, dealtfel, agentul mamitei oilor ca o specie de *Pasteurella* aparte, pe care o numeşte *Past. mastitidis.*

Combaterea pasteurelozei oilor se face prin măsuri de igienă. Contagiozitatea bolii pare, în unele cazuri, evidentă; în consecinţă, este necesară izolarea bolnavilor. Serurile şi vaccinurile pot influenţa evoluţia infecţiei. Pentru imunizarea activă se pot folosi vaccinuri constituite din suspensii de germeni omologi, omorîţi prin căldură sau antiseptice.

Ghenev a obţinut bune rezultate în combaterea unei epizootii din Bulgaria, folosind serul imun. Acesta previne şi chiar vindecă infecţia. În U.R.S.S. prevenirea infecţiei şi tratarea animalelor bolnave se fac prin ser imun.

Sulfamidele, dată fiind acţiunea lor antipasteurelică, pot fi folosite cu rezultate bune.

Pasteureloza iepurelui

La iepuri, infecţiile cu *Pasteurella* apar mai ales iarna ; ele se pot întîlni însă şi în timpul verii, la animalele neraţional hrănite şi adăpostite. Lipsa alimentelor verzi favorizează într-o mare măsură apariţia formelor clinice de pasteureloză. Infecţia latentă, inaparentă, pare destul de frecventă la iepuri, mai ales în timpul iernii, şi, adeseori, animalele inoculate cu diverse produse patologice mor de pasteureloză. De exemplu, la iepurii inoculaţi cu tulpini atenuate de cărbune pasteurela se fixează în edemul local, unde se înmulţeşte, şi de unde trece în sînge. La autopsia unor asemenea animale se găsesc în organe fie numai pasteurele, fie şi pasteurele şi bacili cărbunoşi. Inocularea diverselor antigene (suspensii bacteriene, globule roşii, produse toxice etc.) poate fi urmată de o infecţie pasteurelică. Este foarte probabil că formele latente se transformă sub influenţa unui factor depresiv într-o pasteureloză acută şi rapid mortală. Este de observat, de altfel, că nu totdeauna şi nu la toate animalele, un factor depresiv declanşază o pasteureloză, ceea ce denotă că germenul, sub forma sa virulentă, nu este ubicvitar ; că există deci efective indemne şi efective purtătoare de pasteurele. La acestea din urmă infecţia poate apărea şi poate trece apoi la nepurtători, comportîndu-se deci ca o boală contagioasă.

La iepure, pasteureloza poate evolua acut sau cronic. Formele acute, septicemice, evoluează rapid şi omoară animalul în 1—3 zile. Forma cronică durează mai mult şi se caracterizează prin leziuni pulmonare, pleurale, pericardice şi peritoneale. În cavitatea pleurală şi pericardică, în formele pectorale, se găsesc, la deschiderea cadavrului, colecţii purulente importante, care acoperă şi ascund pulmonul şi chiar cordul. Formele peritoneale, fără afectarea pulmonului, sînt mai rare. Ele se caracterizează prin prezenţa unui lichid vîscos, de culoare cenuşie-murdar, în cavitatea peritoneală. Depozite de fibrină se pot observa printre ansele intestinale. S-au descris, la iepuri, forme subacute, caracterizate fie prin coriză, fie prin constituirea unor colecţii purulente, abcese, în ţesutul conjunctiv subcutan. După Vîşelevski, animalele cu forme subacute sau cronice, şi care prezintă jetaj nazal, îşi pot transmite cu labele infecţia la ochi, provocîndu-şi astfel, o cheratoconjunctivită pasteurelică, ce poate sfîrşi prin pierderea ochiului. In aceleaşi forme şi tot după Vîşelevski, *Pasteurella* se poate localiza în urechea medie, producînd întîi otite şi apoi encefalite.

Infecţia acută, septicemică, nu prezintă simptome clinice caracteristice. Animalul este trist, are părul zbîrlit, flancurile supte, privirea speriată. El stă de obicei în cuşcă, sprijinit pe trenul posterior, cu capul în sus, în căutarea a cît mai mult aer. Respirația este accelerată, de tip costo-abdominal, uneori sforăitoare. Ceea ce este într-o oarecare măsură, patognomonic infecției pasteurelice a iepurelui, este în primul rînd dispneea, în al doilea rînd figura speriată de animal care se asfixiază. Se observă, mai ales în ultima fază a bolii, o răceală pronunțată a urechilor. Venele auriculare sînt total lipsite de sînge și chiar prin frecarea urechii cu xilol sau toluol — vasodilatatori puternici — nu se poate obține totdeauna un aflux sanguin care să permită recoltarea sîngelui necesar unei numărători de globule albe.

Examenul sîngelui animalelor infectate pune în evidență, de regulă, o leucopenie gravă, 2 000—3 000 de elemente pe 1 mm³. Leucopenia poate alterna cu reveniri la normal sau chiar cu stări de leucocitoză. Prezența leucopeniei este caracteristică infecției pasteurelice și poate servi pentru diagnostic. La animalele bolnave homoculturile sînt pozitive mult timp înainte de moarte, 24 de ore sau chiar mai mult. Numărul germenilor conținuți pe 1 ml de sînge poate atinge sau depăși cifra de 3 000.

În formele acute, moartea survine uneori brusc, animalul prezentînd doar o scurtă perioadă de agitație; alteori ea este precedată de o stare comatoasă, care poate dura cîteva ore.

La autopsie se constată leziuni congestive, situate în toate organele interne. Pe suprafața pulmonului se observă zone puternic congestionate, care alternează cu zone de culoare ușor roz. Splina este evident mărită și de culoare roșie-închis.

În pulmon, pe secțiuni, se observă constant o infiltrație a pereților alveolari cu elemente albe, în special polinucleare. În ficat, leziunea histologică constă, fie dintr-o infiltrație, uneori masivă, cu elemente albe, fie din infiltrație și zone necrotice microscopice. În splină, se observă focare necrotice și mici abcese constituite din polinucleare. În glomerulii renali se constată o infiltrație cu polinucleare.

Pasteureloza la iepuri se combate prin măsuri sanitare și igienice. Izolarea animalelor bolnave, care de regulă prezintă scurgeri nazale, dezinfecția cuștilor, schimbarea locului etc. pot da rezultate, mai ales cînd aceste măsuri sînt asociate cu o îmbogățire a hranei în alimente verzi. Serurile și vaccinurile nu dau rezultate apreciabile. Seroprofilaxia preventivă se poate asocia cu măsurile sanitare și igienice, în vederea asanării infecției într-o crescătorie. Streptomicina poate fi folosită în prevenirea și tratamentul infecției.

În concluzie, prevenirea și tratamentul infecției pasteurelice la iepuri sunt probleme foarte grele. Boala apărută într-o crescătorie duce de regulă la distrugerea ei, mai ales dacă condițiile de igienă și alimentație nu sînt din cele mai bune.

Pasteureloza cobaiului

La cobai, pasteureloza este o infecție de iarnă și se datorește alimentației deficitare și adăposturilor neigienice. Pneumococul se poate asocia pasteurelei, dînd infecții mixte (Rusu, 1931). Infecția pasteurelică la cobai este mult mai rară decît la iepure, animalul bucurîndu-se de o rezistență însemnată față de acest germen.

Pasteureloza şoarecelui alb

Şoarecele, deşi este animalul cel mai sensibil la infecţia experimentală, nu se infectează spontan cu *Pasteurella*. Stînd în acelaşi borcan cu animalele infectate cu *Past. animalium* şi care mor de pasteureloză, el nu capătă, totuşi infecţia. Deseori şoarecii îşi consumă congenerii morţi de pasteureloză fără însă să se infecteze cu regularitate. În unele cazuri, în condiţii încă neprecizate, în special iarna, pasteureloza poate îmbrăca în crescătoriile de şoareci albi un caracter enzootic. Tulpinile de *Pasteurella* izolate din asemenea focare nu sînt în total identice cu cele izolate de la păsări sau bovine.

Pasteureloza la şobolan

Şobolanul, sălbatic sau alb, este foarte rezistent, şi infecţiile naturale sînt rar întîlnite. O asemenea infecţie a fost descrisă de Ionescu (1922), care izolează germenul şi îi studiază caracterele. Tulpinile izolate nu au reprodus însă constant infecţia, în condiţii experimentale.

Şobolanii sălbatici pot fi purtători de pasteurele. Hulphers şi Henricson (1943) găsesc că 17% din şobolanii capturaţi au pasteurele în amigdale, iar Schipper (1947) examinînd tot amigdalele descoperă un procent de purtători de 14%.

Pasteureloza animalelor sălbatice

Bollinger a descris în 1878, cazuri de pasteureloză la animalele sălbatice — cerbi, porci mistreţi etc. După el şi alţi cercetători au observat asemenea infecţii la căprioare. Marx (1908) descrie o pneumonie pasteurelică la tigru, iar Riegler şi Iriminoiu (1923), Smith (1954) infecţii cu caracter septicemic la maimuţe. În ţara noastră Ionescu (1922) a identificat infecţii pasteurelice la şobolani sălbatici şi la vrăbii.

Pasteureloza cîinilor

Pasteureloza la cîine este totdeauna o infecţie secundară. Astfel, în pneumoniile jigodioase se găsesc, pe lîngă alţi germeni şi pasteurele, ceea ce a făcut de altfel pe Lignières (1900) să considere jigodia o pasteureloză. Cîinii sînt frecvent purtători de pasteurele. Smith (1955), de exemplu, afirmă că aceste animale sînt purtătoare în proporţie ce variază de la 0 la 62%. Semnalează că frecvenţa purtătorilor variază în raport cu anotimpul, vîrsta şi sexul. Vara procentul este mai mic ca iarna, căţeii tineri sînt mai frecvent purtători ca cei adulţi, iar masculii mai frecvent ca femelele. Incidenţa pasteurelei este mai mare în amigdale ca în cavităţile nazale. În amigdale, pasteurelele constituie flora dominantă la unii cîini.

Pasteurelele se pot izola, ca agenţi de infecţie secundară, din pulmon, lichid pleural şi uneori şi din splină, măduva osoasă sau alte ţesuturi şi organe.

Pasteureloza pisicilor

Infecții pasteurelice au fost descrise la pisicile din crescătorii sau din gospodării. Gaertner (1909), de exemplu, a descris o epizootie apărută într-un laborator la pisicile inoculate cu tripanozome. Boucek (1910) afirmă că pasteureloza a decimat pisicile de pe întinse regiuni din Moravia. Cazuri sporadice de pasteureloză se descoperă de regulă, la autopsiile însoțite de un examen bacteriologic. Astfel, Mihăilescu și Lupu (1933) au găsit și descris două asemenea cazuri. La autopsia acestor două animale s-au găsit leziuni congestive și hemoragice. Culturile izolate au reprodus infecția la șoarece, porumbel, găină și pisică. Stamatin și Anghelescu (lucrare inedită) au izolat cîteva tulpini de pasteurelă de la pisici. Tulpinile erau puțin patogene pentru șoarece și aparțineau, din punct de vedere imunologic, tipului aviar.

Pisicile poartă frecvent pasteurele pe căile respiratorii. Schenk (1938) găsește un procent de purtători de 75%, iar Lenormant (1941) de 90%. De asemenea, se poate izola pasteurele din afecțiuni care au o altă etiologie primară. Destul de frecvent se găsesc în pleurezii.

Pasteureloza omului

Pasteurelele s-au izolat în rare cazuri de la om. De cele mai multe ori, germenii izolați nu au fost complet studiați sau au fost considerate, ca pasteurele, în mod eronat, bacterii mobile, germeni care lichefiază gelatina sau produceau gaze în mediile cu glucoză. Alteori, bacteria a fost însă corect cercetată și în mod just clasată ca o pasteurelă, dar nu s-a putut preciza rolul etiologic al germenului în procesul patologic din care a fost izolată. Un caz de pleurezie purulentă cronică descris, în 1922, de Teissier și colaboratorii poate fi atribuit, în mod neîndoielnic, pasteurelei. Germenul izolat din acest caz a fost bine studiat. El fermenta glucoza și zaharoza, producea indol, nu lichefia gelatina și nu se înmulțea în medii cu bilă; era deci o pasteurelă. Puterea patogenă pentru animalele de experiență era aceea pe care o întîlnim la pasteurelele animale: omora cobaiul, iepurele, porumbelul și șoarecele. Allott și colaboratorii (1944) au întîlnit de asemenea infecții umane provocate de pasteurele autentice. De asemenea Ionescu (1947) izolează, în cultură pură, din sîngele unei femei de 23 de ani, un germen avînd caracterele pasteurelei. Femeia fusese mușcată de o pisică și prezenta, pe lîngă tumefacția regiunii în care se găsea plaga, reacții generale: febră, cefalee, somnolență. Hemoculturile au fost pozitive în timpul acceselor febrile. Febra a apărut a treia zi după mușcătură și a durat pînă în a opta zi. Germenul izolat era puțin patogen pentru găină și porumbel — 1 ml de cultură omoară aceste păsări în 4 zile; era mai patogen pentru iepure: 0,2 ml de cultură îl omoară în 12 ore.

Reilly (1954) și Reilly și Tournier (1954) afirmă că în ultimul timp cazurile de pasteureloză la om s-au înmulțit și pare pe deplin dovedit că infecția se transmite prin mușcătura pisicilor. Autorii au studiat 50 asemenea cazuri. Clinic, boala se manifestă prin dureri vii și fenomene inflamatorii intense la locul mușcăturii, urmate de adenopatii epitrocleene sau axilare. După cicatrizarea plăgii apar adeseori dureri articulare tenace, care sînt urmări ale infecţiei pasteurelice. Persoanele infectate sînt sensibile, şi reacţionează specific la alergenul pasteurelic, ceea ce înlesneşte diagnosticul. Sensibilitatea alergică este datorită multiplicării agentului etiologic în căile limfatice şi hiperplaziei ţesutului reticular adenoid. Autorii recomandă ca tratament, în faza iniţială a infecţiei antibioticele, iar mai tîrziu, contra durerilor articulare vaccinoterapia. Cazurile de acest fel rămîn totuşi izolate; practic, pasteurelele animale nu sînt patogene pentru om. În ţările în care holera aviară este întinsă se manipulează şi se consumă, destul de frecvent, carne provenind de la animalele sacrificate în faza septicemică a bolii, fără a se constata tulburări morbide la persoanele care vin astfel în contact masiv cu germenul.

Pasteurella pestis (Lehmann şi Neumann) Holland, 1920

Sinonime: Bacille de la peste Yersin, 1894. *Bacterium pestis* Lehmann şi
Neumann, 1896. *Bacterium pestis bubonicae* Chester, 1897
Bacillus pestis Migula, 1900.

Agentul ciumei sau pestei bubonice *(Pestis)* a fost descoperit simultan de Yersin (1894) şi Kitasato (1894). Primul găseşte germenul în ganglioni, al doilea în sîngele oamenilor bolnavi de pestă din Hong-kong. Cercetările ulterioare făcute de Ogata (1897), Simond (1898) şi în fine de o comisie engleză au stabilit că germenul infectează şobolanii şi că aceştia întreţin şi transmit de regulă contagiul la om.

În ceea ce priveşte boala produsă de acest germen la om, ea este cunoscută din cele mai vechi timpuri şi a constituit, în timpurile istorice ale umanităţii, una din cele mai teribile plăgi. Înaintea erei noastre au fost identificate 41 de epidemii, iar în era noastră, pînă la anul 1500, 109 epidemii. Între anii 1500 şi 1720 au existat 45 de epidemii. Se înregistrează apoi o acalmie a bolii, pentru ca în 1896 să asistăm la un ultim val epidemic de ciumă care a cuprins aproape toată lumea.

Ţările Romîneşti nu au fost scutite de acest flagel şi chiar în timpurile moderne s-au semnalat epidemii care au făcut enorm de multe victime, cum sînt epidemia din 1718 din Transilvania (100 000 de victime), epidemia tot din Transilvania din 1738—1739 (42 000 de victime), epidemia din 1813 din Muntenia (70 000 de victime). Pierderile cauzate de ciumă au fost şi sînt încă enorme. Astfel, în India în intervalul 1894—1918 au murit de ciumă mai mult de 10 milioane de oameni.

Morfologie. *Past. pestis* este un germen polimorf, prezentîndu-se de obicei ca un germen ovoid, cu capetele rotunde şi marginile convexe, măsurînd 1—2 microni lungime şi 0,7 microni lăţime. Germenii pot fi izolaţi sau grupaţi în grupe mici, neregulate sau în lanţuri scurte. Sînt lipsiţi de cili şi deci imobili. În materialul patologic ca şi în mediile cu ser ei sînt înconjuraţi de o capsulă. Nu sporulează.

Sînt Gram negativi; se colorează cu toate culorile bazice de anilină. Coloraţia bipolară este prezentă în special la germenii din materiale patologice.

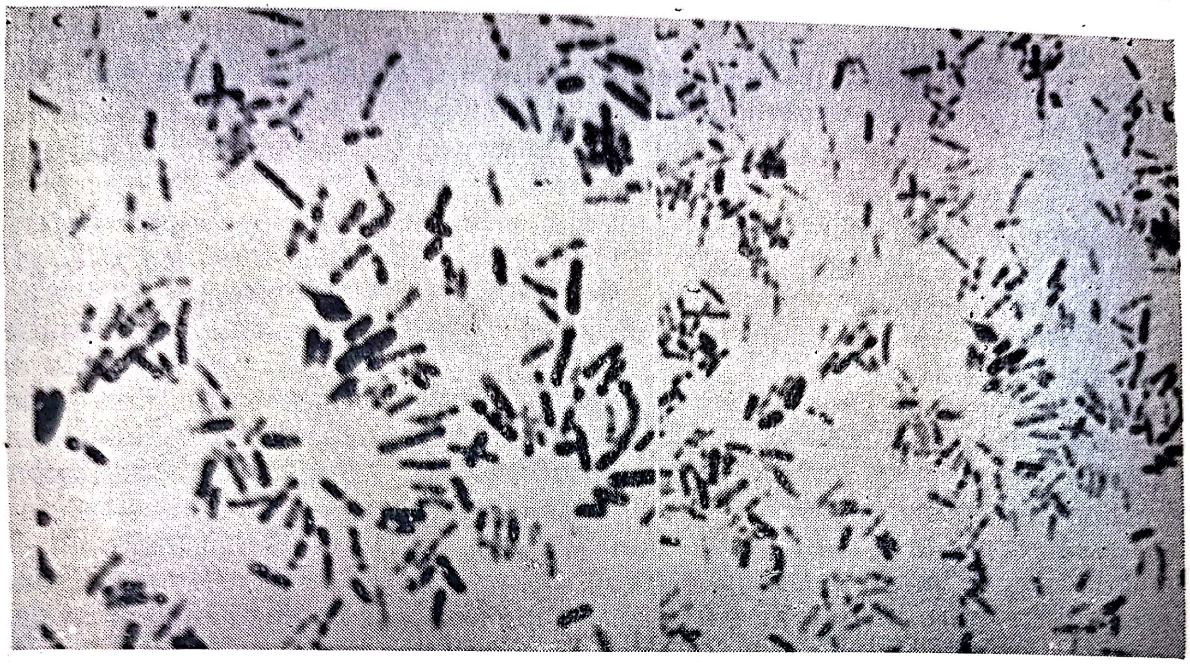


Fig. 34 — Pasteurella pestis (stînga × 1 800; dreapta × 1 050) (din Jordan-Burrows, 1950)

Medii și caractere de cultură. *Past. pestis* se dezvoltă pe medii uzuale, dar preferă mediile cu ser sau sînge. În bulion, unele tulpini dau o cultură omogenă, altele una aglutinată. Pe agar, constituie, de regulă, colonii mici, 0,1—0,2 mm după 24 de ore, peste 4 mm după 5 zile, cu marginile ușor neregulate, difuze, de culoare galbenă-cenușie la centru și galbenă-albăstruie la periferie. Consistența culturii este vîscoasă, se omogenizează ușor. Se dezvoltă în gelatină și pe ser coagulat.

Temperatura optimă de dezvoltare este 25—30°C cu limite variind între 0 și 45°C. pH-ul optim = 7,2.

Proprietăți biochimice. Fermentează, cu producție de acid, dar nu de gaze, constant glucoza, arabinoza, manita, xiloza, maltoza și salicina, inconstant ramnoza și glicerina (14 zile). Nu modifică sau modifică ușor zerul turnesolat. Nu produce indol. Nu reduce albastrul de metilen. Produce cantități reduse de SH_2. Produce amoniac. Proba catalazei este pozitivă. Nu lichefiază gelatina și nici serul coagulat. Nu hemolizează globulele roșii.

Rezistență. Germenul este sensibil față de căldură și antiseptice: se distruge în 5 minute la 55°C, imediat într-o soluție 5% de fenol și în 15 minute într-o soluție 0,5% din același antiseptic. Sensibil la lumină; culturile în plăci, expuse la lumina solară, se sterilizează în 1—5 ore. În culturi, la ghețar, se conservă cîteva luni. Sensibil față de sulfamide, ceea ce apropie *Past. pestis* de *Past. animalium*.

Structură antigenică. După Schütze (1932), germenul posedă un antigen de suprafață, termolabil și care apare în culturile incubate la 37°C și altul somatic, termostabil și care se găsește atît în culturile incubate la 37°C, cît și în cele incubate la 20°C. Există tulpini care nu au decît antigenul somatic.

Acelaşi antigen somatic se găseşte şi la specia *Past. pseudotuberculosis*, din care cauză un ser preparat cu *Past. pestis* aglutinează şi germenii speciei *Past. pseutotuberculosis* şi invers.

PATOGENITATEA

Infecţia experimentală. *Past. pestis* este patogenă în condiţii experimentale, pentru şoarece, şobolan, cobai, spermofil (*Spermophilus citellus*) şi maimuţă. Păsările şi mamiferele domestice sînt refractare.

Şobolanul este animalul de preferat pentru cercetări experimentale. El poate fi infectat pe cele mai diverse căi. Astfel, un număr redus de bacili, inoculaţi pe cale subcutană, produc o infecţie mortală în cîteva zile. La autopsia animalului se constată edem şi necroze la locul de inoculare, hipertrofia ganglionilor aferenţi, splina mărită, ficatul şi pulmonii congestionaţi. Uneori se poate găsi un exudat în cavitatea pleurală. La animalele la care boala a durat mai mult timp — 1 săptămînă sau mai mult — sînt de regulă prezente focare necrotice în ficat şi splină. Germenii sînt prezenţi în mare număr în sînge şi organe; ei se colorează bipolar şi pot prezenta forme de involuţie. Infecţia se reproduce constant la şobolani şi prin depunerea unei picături de cultură virulentă pe mucoasa conjunctivală. Animalele, în acest caz, mor în 3—4 zile, prezentînd, la autopsie, hipertrofia ganglionilor cervicali şi ai splinei, hemoragii pe mucoasa stomacului şi jejunului. În cazul cînd cultura este depusă pe mucoasa nazală se produce, de regulă, o pneumonie pestoasă, datorită inhalării germenilor. Pe cale digestivă, infecţia se reproduce mai puţin constant.

Şoarecele alb se comportă ca şi şobolanul.

Cobaiul este cel puţin tot aşa de receptiv ca şi şobolanul. Inoculat pe cale subcutană, cu cultură pură, el moare în cîteva zile, prezentînd leziuni asemănătoare cu cele descrise la şobolani. Focarele necrotice sînt frecvent prezente în splină, ficat şi chiar pulmon. Inoculările intradermice duc la constituirea unei reacţii necrotice locale, urmate de generalizarea infecţiei; moartea survine în 4—5 zile. Inahalaţia germenilor duce la apariţia pneumoniei pestoase; animalul moare în 2—3 zile. Pe cale intraperitoneală germenii virulenţi produc o peritonită mortală în 24—36 de ore. Depunerea culturii pe mucoasa conjunctivală asigură constant reproducerea infecţiei. Pe cale bucală, cobaiul poate fi inconstant infectat.

Iepurele este mai puţin sensibil ca şobolanul, şoarecele sau cobaiul. Inocularea culturii virulente pe cale subcutană produce totuşi constant o infecţie mortală.

Maimuţele sînt destul de receptive şi infecţia poate fi cu uşurinţă reprodusă atît prin inocularea culturilor pe cale subcutană sau intraperitoneală, cît şi prin ingestia germenilor virulenţi.

INFECŢIA NATURALĂ CU PASTEURELLA PESTIS

Epidemiologie. Pesta se întîlneşte la rozătoare (*Rattus norvegicus, Rattus rattus, Spermophilus citellus, Citellus beecheyi, Arctomys bobac, Citellus oregonus, Spermophilus rufescens* etc.) şi om. Rozătoarele constituie izvorul natural al infecţiei şi epidemiile umane au ca punct de plecare epizootiile pestoase ale rozătoarelor. O dată însă infecţia declarată într-o colectivitate umană, transmiterile interumane sînt posibile. Transmiterea infecţiei de la şobolan la şobolan şi de la şobolan la om se face, de cele mai multe ori, nu direct ci prin intermediul insectelor, în special prin puricii *Xenopsylla cheopis* şi *Ceratophyllus fasciatus*, ectoparaziţi ai rozătoarelor. Aceştia sug sîngele animalului infectat, sînge care în perioada agonică pestoasă conţine cantităţi enorme de germeni. Germenii ingeraţi o dată cu sîngele nu mor în aparatul digestiv al insectei, ci, din contra, ei se multiplică şi pot persista aici cîteva luni. Animalul respectiv bolnav de pestă între timp moare şi ectoparaziţii părăsesc cadavrul şi caută o altă gazdă. În cazul cînd o găsesc, în timp ce sug sîngele noii gazde îi introduc şi germenii prezenţi pe traiectul tubului său digestiv. În acest mod se transmite de regulă infecţia. Devorarea cadavrelor şobolanilor morţi de pestă de către şobolanii sănătoşi reprezintă un mod de transmitere mult mai rar, dat fiindcă infecţia, pe cale orală, se face greu. De asemenea, infecţia nu se transmite deobicei prin contact.

Arie geografică. Pesta sub formă de focare endemice există în prezent în Africa de sud şi America, India şi unele regiuni din sudul Asiei. Persistenţa ei în aceste regiuni se datoreşte existenţei infecţiei printre rozătoare. Epidemiile de pestă la şobolan şi la om au caracter exploziv şi urmează unor perioade de acalmie. Factorii care fac ca unor perioade de acalmie să le urmeze o epidemie gravă nu sînt încă complet cunoscuţi.

Extinderea pestei din focarele endemice în regiuni indemne se face prin intermediul şobolanilor şi această extindere nu are caracter de continuitate, nu se face în pînză, ci prin salturi, în sensul că între diversele focare pot exista mari distanţe. În trecut şi în special în cursul secolului al XIX-lea, pesta a fost împrăştiată în toată lumea prin şobolanii infectaţi şi care se găseau pe vapoare. Astfel, epidemia de pestă de la sfîrşitul secolului al XIX-lea a avut ca punct de plecare Hong-kongul, unde apare în 1894; de aici ea a invadat în 1896 India, Japonia, Turcia asiatică şi Rusia, în 1897 apare în Madagascar, în 1899 în Arabia, Persia, Austria, Portugalia, Africa de sud, Egipt, Argentina, Brazilia, în 1900 în Anglia, Australia, California.

Caracterul infecţiei la şobolan

La şobolan, *Rattus norvegicus* (şobolanul gri), *Rattus rattus* (şobolanul negru), se întîlnesc două forme de pestă: una acută septicemică, care este frecventă în punctul culminant al epizootiei, alta cronică, latentă, care apare la sfîrşitul epizootiei. În formele acute, septicemice, leziunile sînt cele ce se găsesc la şobolanii infectaţi experimental pe cale subcutană; în formele latente se găsesc leziuni atipice, care constau în special din abcese mari în splină şi ficat; în conţinutul acestor abcese se găsesc germenii în număr mare.

Infecţia la om

Pesta la om evoluează sub trei forme: bubonică, septicemică şi pneumonică. Formele bubonică şi septicemică sînt mai frecvente în regiunile şi sezoanele calde, cea pulmonară în regiunile şi sezoanele reci.

Forma bubonică este, dintre toate cele trei forme de pestă cea mai benignă. Ea se caracterizează clinic inițial prin simptome generale — febră intensă, cefalee — urmate în scurt timp — de regulă, 24 de ore — de apariția adenitei — bubonului — pestoase. Bubonul pestos este localizat la pachetul ganglionar aferent porții de intrare, adică regiunii cutanate în care puricele a introdus contagiul. Tumefacția ganglionară este precedată de dureri în regiunea respectivă. Ganglionul afectat își mărește dimensiunile; țesuturile periganglionare și pielea sînt și ele cuprinse de procesul inflamator; pielea întîi se congestionează, apoi se cianozează. Punctul cutanat, în care prin pișcătură s-a introdus agentul bolii, poate prezenta uneori, dar nu totdeauna, o leziune care inițial se prezintă ca o zonă roșie, o papulă care se transformă în flictenă, apoi în veziculo-pustulă și în fine se poate constitui local un ulcer. Apariția bubonului pestos nu duce la dispariția simptomelor generale; acestea, din contra, în formele maligne se agravează, febra se menține, cu mici variații, ridicată, apar tulburări nervoase — delirul halucinatoriu — uneori diaree și, în fine, coma și moartea. În formele benigne, simptomele generale sînt mai puțin violente, bubonul pestos se fistulizează, conținutul său se elimină și fistula se vindecă.

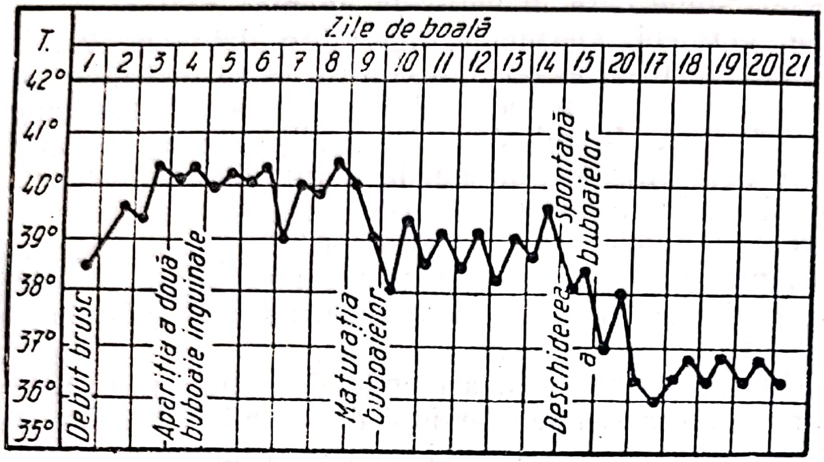


Fig. 35 — Curba termică în pesta bubonică la om (după Blanc, din Bezançon și col., 1926)

Forma septicemică se poate instala direct, fără o localizare ganglionară sau poate urma unei adenite pestoase. Prima formă are o evoluție gravă — febra peste 40°C, tulburări nervoase, adinamie profundă, hemoragii pe mucoase, hematemesă, melenă, dispnee și în fine coma, moartea survenind în scurt timp, 24—48 de ore. Forma precedată de localizarea ganglionară are o evoluție ceva mai lungă, dar sfîrșește frecvent cu moartea.

Forma pneumonică poate fi consecința unei infecții aeriene sau a unei infecții cutanate. În acest din urmă caz germenii ajung în pulmon pe cale limfatică sau sanguină. Tabloul clinic este dominat de tulburările situate pe aparatul respirator, dar nici celelalte simptome generale nu sînt absente. Bolnavul este febril — 40°C sau mai mult — varsă, poate prezenta tulburări nervoase, delir. Tulburările pulmonare se traduc prin tuse, expectorații la început seroase și spumoase, pe urmă groase, roz sau roșii și care conțin cantități enorme de bacili. Dispnea este gravă. Moartea survine prin asfixie. Bolnavii cu forme pulmonare pot transmite infecţia prin expectoraţiile lor ; forma pulmonară, spre deosebire de cea bubonică şi septicemică, este deci contagioasă.

Modificări anatomice. In forma bubonică, în parenchimul ganglionilor afectaţi sînt prezente zone necrotice înconjurate de zone hemoragice ; ţesutul periganglionar este edemaţiat. In formele septicemice, leziunile sînt de tip hemoragic — echimoze şi sufuziuni sanguine pe suprafaţa mucoaselor şi seroaselor. Splina este mărită în volum, hemoragică ; ficatul hipertrofiat şi distrofic (degenerare grasă), miocardul degenerat. In formele pulmonare se găseşte o dublă pneumonie ; pulmonii sînt foarte edemaţiaţi şi au culoare roşie-închis (hepatizaţie roşie) sau gri (hepatizaţie gri). In formele pulmonare supraacute, leziunea pulmonară este reprezentată printr-o alveolită ; în lumenul alveolelor se găsesc polinucleare şi hematii, dar fibrina lipseşte. In general, ceea ce domină tabloul antomopatologic este diateza hemoragică şi prin aceasta pesta umană se apropie pînă la identificare de pasteurelozele animale. Pesta este septicemia hemoragică a omului şi, deci, şi din acest punct de vedere încadrarea agentului ei etiologic în genul *Pasteurella* este deplin justificată.

Diagnosticul infecţiei cu *Past. pestis* la şobolani se face prin examen anatomo-patologic şi în special bacteriologic. Germenii izolaţi sînt examinaţi din punct de vedere morfologic, biochimic, cultural şi al patogenităţii. Diferenţierea faţă de *Past. pseudotuberculosis,* cu care se poate mai uşor confunda, se sprijină în special pe proba mobilităţii.

Diagnosticul la om în timpul vieţii se sprijină pe date epidemiologice, examen clinic şi de laborator. Izolarea germenilor din adenitele pestoase sau din jetajul nazal este posibilă şi prin aceasta se pune diagnosticul de precizie. Probele serologice au o valoare redusă ; o seroaglutinare pozitivă la titrul de 1/2 — 1/40 confirmă diagnosticul, dar una negativă nu-l exclude. După moarte, examenul anatomo-patologic şi cel bacteriologic permit precizarea diagnosticului.

Profilaxia se sprijină pe măsuri specifice şi nespecifice. Măsurile specifice — vaccinarea — se aplică în regiunile în care boala este endemică. Se folosesc fie vaccinuri inactivate — culturi în bulion vechi de 4 săptămîni omorîte printr-o încălzire de 15 minute la 55°C şi cărora li se adaugă şi 0,5% fenol — fie vaccinuri vii preparate din tulpini atenuate. Folosirea vaccinurilor reduce procentul de mortalitate într-o măsură însemnată.

Măsurile nespecifice constau din distrugerea şobolanilor şi a puricilor, cei doi agenţi principali de întreţinere şi propagare a infecţiei. Distrugerea acestor două categorii de vieţuitoare sau a uneia din ele nu se poate realiza încă în toate regiunile planetei şi de aceea pesta mai persistă în multe teritorii.

Tratament. Serul imun are, în general, o redusă valoare terapeutică ; totuşi, în forma bubonică procentul vindecărilor la oameni trataţi cu ser, în raport cu cei netrataţi cu ser, este mai mare. Serul se prepară pe cai cărora li se inoculează culturi avirulente de *Past. pestis* şi se inoculează la om în doză de 40—20 ml subcutan şi 20 ml intravenos. Injecţiile cu ser se repetă la interval de 2—5 zile. Administrarea intravenoasă trebuie făcută cu precauţie.

Sulfamidele (sulfapiridina, sulfatiazolul, sulfadiazina) au fost folosite cu bune rezultate în tratamentul pestei umane. Antibioticele cele mai active, in vitro, sînt cloramfenicolul, aureomicina, terramicina, streptomicina și neomicina (Brygoo și col., 1955).

Pasteurella tularensis (Mc. Coy și Chapin) Bergey et al, 1948

Sinonime: *Bacterium tularense* Mc. Coy și Chapin, 1912.
Brucella tularensis Topley și Wilson, 1931

Past. tularensis sau *Bact. tularense* a fost identificată întîi în 1912 de Mc. Coy și Chapin într-o infecție naturală a unui rozător (spermofilul *Citellus beecheyi*) și apoi la alte rozătoare. Mai tîrziu s-a dovedit că infecția animală este identică, din punct de vedere etiologic, cu o maladie umană cunoscută sub numele de tularemie și identificată de Wherry și Lamb în 1914.

Caractere morfologice. Germenul este Gram negativ, asporulat și aciliat. Capsula nu este vizibilă, în condiții obișnuite de examinare. În frotiurile făcute din amestec de cultură și ser, germenii sînt capsulați. Măsoară 0,2 microni lățime și 0,3—0,7 microni lungime. Adeseori se prezintă ca un coc. Acest aspect este întîlnit în mediile în care germenul găsește condiții optime de multiplicare. Pe medii mai puțin favorabile, apar forme alungite sau filamentoase, care constituie o indicație privind valoarea mediului folosit (Sakurai, 1954). Pe mediu Francis cu 20% ser de cal și cu 10 000 U.I. de penicilină pe 1 ml, germenul dă forme L (Benrey și col., 1954).

Medii și caractere de cultură. Bacteria nu se cultivă pe medii obișnuite, dar crește pe medii cu ou sau pe medii obișnuite, bulion sau geloză, cărora li se adaugă glucoză, sînge și cistină.

Mediul cu ou (Francis) se prepară amestecînd 60 părți de gălbenuș cu 40 părți apă fiziologică. Amestecul se coagulează, încălzindu-l 30 de minute la 73°C. Mediul cu glucoză, sînge și cistină este constituit din: 100 ml de bulion, 1,5 g de agar, 1 g de glucoză și 0,1 g de cistină (concentrația de cistină poate fi redusă la jumătate).

pH = 7,3—7,4.

Înainte de însămînțare se adaugă sînge defibrinat în proporție de 8—10%.

Bacteria se dezvoltă și în bulion cu ser, glucoză și cistină.

Condrea, în scopul obținerii suspensiilor de germeni necesari reacției de seroaglutinare, cultivă bacteria pe un mediu preparat, după cum urmează: 500 g de carne tocată se amestecă cu 1 000 ml de apă și totul este încălzit, timp de 30 de minute, la 134°C (2 atmosfere). Lichidul, după răcire, se decantează, se ajustează pH-ul la 7,3—7,4 și i se adaugă 10 g de peptonă, 5 g de sare (ClNa) și 17,5 g de fibre de agar. Se încălzește la fierbere, pentru topirea agarului, se ajustează din nou pH-ul la 7,3, se filtrează și se distribuie în flacoane. Înainte de întrebuințare se adaugă, pentru fiecare 100 ml de mediu lichefiat, 10 ml dintr-un amestec, preparat în prea-

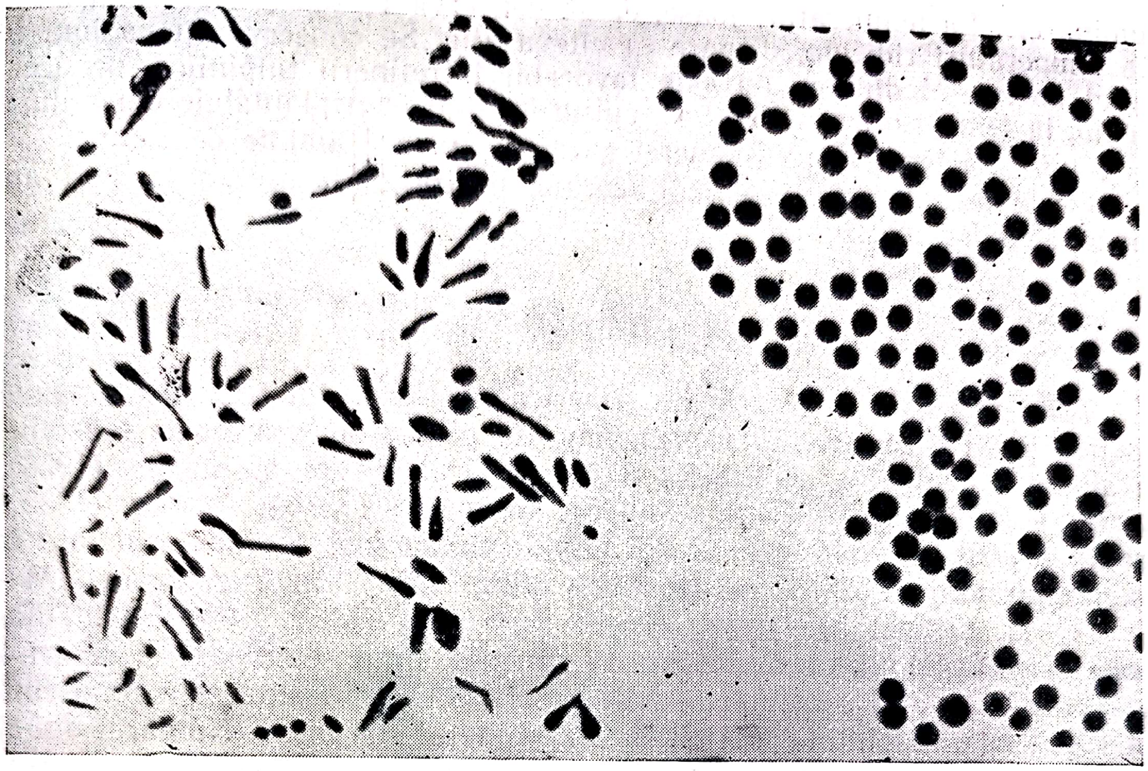


Fig. 36 — Pasteurella tularensis (din Jordan-Burrows, 1950)
stînga — forme bacilare; *dreapta* — forme cocoide

labil și conținînd 10% glucoză și 1% cistină. Această din urmă soluție este sterilizată prin două încălziri succesive, de cîte 1 oră, la 100°C, făcută la 24 de ore interval. Mediul se distribuie apoi în tuburi care se solidifică în poziție înclinată.

Past. tularensis se dezvoltă în embrionul de găină; depusă pe membrana corioalantoidiană ea produce moartea embrionului în 3—4 zile.

Atacă, cu slabă producție de acid, în mod constant, glucoza și glicerina și, adeseori, maltoza, manoza și levuloza.

Izolarea germenului, din produse patologice, este dificilă. Culturile directe sînt, în general, negative. Berman recomandă ca materialul patologic să fie injectat, pe cale intraperitoneală, la cobai și, după moartea acestora, care survine după 6—7 zile, să se facă însămînțări pe medii convenabile. In cazuri pozitive, cultura nu apare înainte de 2—3 zile și, uneori, ea nu este vizibilă decît după 1 săptămînă. Incubația, în cazul tulpinilor de laborator, se face la 37°C.

Cultura pe medii cu ou se prezintă sub forma de mici colonii, care sînt vizibile chiar după o incubație de 24 de ore. Pe mediul lui Francis se produce un strat de cultură mai abundentă, de culoare albicioasă și de consistență mucoasă. Cultura este abundent dezvoltată după 24—48 de ore la 37°C. In mediile lichide, germenul formează o peliculă la suprafață.

Rezistență. *Past. tularensis* este foarte fragilă. Germenul moare într-o oră la 45°C și în 5 minute la 60°C. In pieile animalelor, moarte din cauza tularemiei, durata conservabilității este în funcție de temperatură.

lumină etc. La temperaturi joase, ea se conservă 1 lună și chiar mai mult. La temperaturi ridicate, dispare în cîteva zile. Se conservă cîteva luni în mîlul apelor. Mediul cu ou este favorabil întreținerii tulpinilor, pe acest mediu, la temperatura de 6—8°C, culturile fiind transplantabile chiar după 2—3 luni. La temperatura camerei germenul moare înainte de 1 lună.

Organele infectate puse în glicerină, păstrează la rece, pînă la 1 an, capacitatea lor infectantă.

INFECȚIA NATURALĂ

Tularemia este originară din America de Nord, din regiunea orașului Tulare, de unde ea s-a întins, prin importul pieilor de la animale sensibile, în alte țări cum sînt: U.R.S.S., regiunea Ural și Volga, Suedia (1930), Norvegia (1929—1930), Turcia (1936), Germania (1938), Austria (1935), Franța (1946) și în 1949 în R.P.R. Epidemii au fost recent semnalate în Polonia în anii 1952—1953 (Rozowski, 1954), în Jugoslavia (Mihaljevic și col., 1954), în Cehoslovacia (Jirovec, 1953) etc. Tularemia este cunoscută de mult timp în Japonia, fiind semnalată și descrisă încă de la începutul secolului al XIX-lea. În S.U.A. infecția este cunoscută din 1912; este răspîndită mai cu seamă în statul Arkansas. Numărul anual al cazurilor pe întreg întinsul S.U.A. este de 1 000 din care 200 sînt identificate în statul Arkansas.

Boala se transmite, printre animale, prin insecte, cum sînt tăunii (*Chrysops discalis*): căpușele (*Dermacentorandesoni, Dermacentor occidentalis* și *Haemophysalisleporis palustris*); ploșnițele (*Cimex lectularius*), puricii, stomocșii etc. Germenul a putut fi izolat de la asemenea transmițători. Astfel Benda și Heyberger (1953) și Șatas și Bistrova (1954) izolează *Past. tularensis* de la diverse ixodide ca *Ixodes ricinus, Dermacentor marginatus* și *Rhiphicephalus rossicus* în cursul tuturor fazelor lor de dezvoltare, iar Calhoun (1954) de la specia *Amblyomma americanum.* De la animale la om infecția se transmite, de cele mai multe ori, prin contactul cu blănurile sau carnea animalelor bolnave, prin apa sau alimentele infectate și, mai rar, prin înțepături de insecte. În U.R.S.S., boala este comună printre vînătorii de șobolani de apă. Jupuirea rozătoarelor infectate constituie ocazia cea mai propice pentru transmiterea bolii.

Tularemia la om

La om, boala durează de la cîteva săptămîni la cîteva luni și se caracterizează prin astenie și constituirea unor focare necrotice, cu localizări diverse. Se pot observa localizări cutanato-ganglionare, oculo-ganglionare, angino-ganglioare; uneori, maladia evoluează fără localizări, constituind forma tifo-gripală sau ganglionară. Localizările pulmonare, intestinale și nervoase sînt mai puțin frecvente.

Forma cutano-ganglionară este o consecință a pătrunderii germenului prin piele. La locul de pătrundere se constituie întîi o papulă, care apoi se pustulizează și se necrozează. Ulcerul constituit se vindecă greu și lasă în urma sa o cicatrice. Leziunea locală este urmată de tumefacția ganglionilor aferenți. Ganglionii sînt inițial duri, apoi devin moi, pielea care îi acoperă se poate cianoza și, în cazurile în care se necrozează, ea lasă să se scurgă un puroi fluid, de culoare gălbuie.

Forma oculo-ganglionară este destul de frecventă și ea urmează pătrunderii germenului pe cale conjunctivală. Mucoasa conjunctivală, sub acțiunea germenului, se edemațiază puternic, iar pe suprafața sa prezintă o serie de noduli proeminenți. Ganglionii aferenți suferă procese inflamatorii, care pot duce la supurație.

Forma anginoasă se traduce prin inflamația vălului sau chiar prin angina flegmonoasă, însoțită de inflamația ganglionilor aferenți.

Forma ganglionară se manifestă prin tumefacția ganglionilor dintr-o regiune oarecare, frecvent cei din regiunile cervicală, axilară sau inguinală. Nu există o leziune cutanată aferentă ganglionului, germenul nelăsînd, în acest caz, nici o urmă la poarta de intrare.

Forma tifo-gripală se manifestă doar prin febră și prin astenie profundă. Febra este intermitentă și dă o curbă caracteristică. Inițial, se constată frisoane, temperatura atingînd 40°C. Febra scade la normal după 3—6 zile, dar, după 6—9 zile ea se urcă din nou, pentru a se menține atît cît durează boala, adică 2—3 săptămîni. Convalescența este lungă. Mortalitatea este redusă, 4% în unele regiuni. Formele pleuro-pulmonare dau o mortalitate mai mare, pînă la 30%. În R.P.R., în cursul epidemiei din 1949, nu s-a semnalat nici un caz mortal. Tratamentul cu streptomicină dă rezultate pozitive. Sulfamidele și penicilina sînt inactive.

Tularemia la animale

Cercetările făcute în diverse țări și mai ales în U.R.S.S. au arătat că variate specii de animale, în special rozătoarele, se pot infecta în condiții naturale cu *Past. tularensis.*

Specii afectate. Boala naturală este întîlnită la numeroase mamifere, în special rozătoare, precum și la unele specii de păsări. Dintre rozătoare, sînt mai frecvent afectați șoarecii de cîmp *(Microtus arvalis)*, șobolanul de apă (*Arvicola amphibius*), șoarecele de casă (*Mus musculus*), șobolanul comun *(Rattus norvegicus)*, șobolanul negru *(Rattus rattus)*, hamsterul (*Cricetus frumentarius*), precum și iepurele (*Lepus timidus și Lepus europaeus*) ; în cazuri mai rare se pot infecta și unele mamifere insectivore (cîrtița). După cercetările din U.R.S.S., tularemia s-a întîlnit și la păsări (cioara cenușie, coțofana, vrabia, porumbelul etc.) și chiar la unele răpitoare ; acestea din urmă vin în contact cu rozătoarele citate sau cu alimentele peste care au trecut aceste rozătoare. La cioara cenușie, agentul tularemiei poate persista pînă la 4—6 zile, iar la vrabie, 32 de zile.

Rolul cel mai important în transmiterea bolii la om îl au următoarele rozătoare : șobolanul de apă, șoarecele de cîmp și șoarecele de casă.

Ultimele două specii vin în contact cu şobolanii de apă, de la care se infectează mai ales în timpul migraţiilor. *Arvicola amphibius* este rozătorul cel mai rezistent la tularemie şi păstrează activă bacteria în organismul său timp de 24 de zile, ceea ce înlesneşte difuziunea infecţiei. *Mus musculus* este cel mai puţin rezistent şi indivizii infectaţi mor în 2—3 zile.

La *iepurii sălbatici*, ca şi la cei de casă, tularemia se prezintă ca o infecţie febrilă, însoţită de o astenie gravă; animalul, din această din urmă cauză, se deplasează cu greutate, prezintă mişcări dezordonate şi poate fi uşor capturat. Boala este extrem de omorîtoare şi ea decimează vînatul în regiunile în care se instalează.

La autopsia animalelor moarte se constată, de cele mai multe ori, o hipertrofie a ganglionilor limfatici din regiunea cervicală sau axilară; în organele interne, rinichi, ficat, splină, pulmon, se pot găsi noduli necrotici uneori numeroşi şi de dimensiuni reduse, alteori mai rari şi de dimensiuni mai mari. Dimensiunile sînt în funcţie de durata bolii; cu cît boala durează mai mult, cu atît nodulii sînt mai mari. În ţesutul conjunctiv subcutan se pot observa colecţii purulente. Infecţia experimentală poate fi uşor reprodusă la iepure şi durata ei este în funcţie de virulenţa tulpinii. Tulpinile virulente îl omoară în cîteva zile, cele puţin virulente în cîteva săptămîni.

Cobaiul este foarte sensibil la infecţia experimentală. Infecţia se poate face fricţionînd pielea rasă cu material virulent sau depunînd germenii pe mucoasa conjunctivală, injectîndu-i parenteral sau chiar administrîndu-i pe cale bucală. Tulpinile virulente omoară cobaiul în 4—6 zile, producîndu-i hipertofia ganglionilor şi formarea unor noduli necrotici în splină şi ficat, mai rar în pulmon. Tulpinile mai puţin virulente produc o boală cu o evoluţie mai lentă, 2—8 săptămîni. La autopsie se constată hipertrofii ganglionare şi noduli necrotici de dimensiuni importante — bob de mazăre — în ficat şi splină.

Şoarecele este uşor infectabil şi tulpinile virulente îl omoară în 2—4 zile. La autopsie se observă hipertrofia ganglionilor şi ficatului, precum şi noduli necrotici foarte mici în splină.

Oaia. Dintre animalele domestice, oaia se îmbolnăveşte cel mai frecvent de tularemie. Infecţia i se poate transmite prin înţepătura căpuşelor, precum şi pe cale digestivă, prin alimente.

Prima leziune, în cazul transmiterii prin înţepătură, apare la poarta de intrare şi la ganglionii aferenţi şi apoi infecţia se poate răspîndi în tot organismul pe cale limfo-hematică, urmînd o fază de septicemie.

La autopsia animalelor moarte, pe lîngă leziuni nectrotice locale şi hipetrofia ganglionilor limfatici aferenţi se mai observă anemie şi noduli necrotici în ţesutul conjunctiv subcutan. În formele cronice se găsesc leziuni nodulare în organele interne, rinichi, ficat, pulmon.

La oile la care infecţia este de natură alimentară, Avrorov constată o inflamaţie a regiunii faringiene, însoţită, uneori, de un edem al glotei, inflamaţia amigdalelor, hipertrofia şi hiperemia ganglionilor submaxilari, retrofaringieni şi prescapulari. Amigdalele şi ganglionii limfatici pot conţine abcese. Pneumonii sero-fibrinoase, pleurite fibrinoase, noduli necrotici în țesutul pulmonar ca și în alte organe pot fi la fel întîlnite în infecțiile de natură alimentară.

La cîinii bolnavi de tularemie se observă o mărire a ganglionilor limfatici, precum și contracții musculare intermitente. Infecția experimentală se poate confunda cu jigodia.

La bovine, tularemia se poate transmite prin nutrețul provenit din cîmpurile invadate de rozătoarele bolnave sau prin pășuni infectate.

La porci, boala se poate transmite prin consumarea alimentelor adunate de rozătoare în galeriile șoarecilor de cîmp *(Microtus arvalis)*. Infecția pare că nu se face în acest caz per os, ci pe cale aeriană (inhalația prafului infectat). În condiții experimentale, Pașov (1950) nu reușește să infecteze porcii per os, dar îi infectează parenteral. Animalele infectate parenteral se vindecă în 3—4 zile.

Diagnosticul tularemiei, la animalele în viață, se face prin examen clinic, iar la laborator prin seroaglutinare. La animalele moarte se asigură identificarea infecției prin examenul bacteriologic (microscopic și cultural) și anatomo-patologic. Produsele suspecte, în vederea izolării și identificării germenului, se inoculează la cobai. Manipularea animalelor infectate, precum și a culturilor se fac cu grijă, deoarece germenul traversează pielea umană intactă.

La om, diagnosticul de laborator se face prin seroaglutinare. Reacția se execută în condiții obișnuite și este considerată pozitivă la titrul de 1/200 sau mai mult. Serul este folosit în diluții de 1/100, 1/200, 1/400 și 1/800. Citirea se face după 2—3 ore la baia de 38°C și 20 de ore la rece. Fras și Aleraj (1954) obțin rezultate satisfăcătoare și prin seroaglutinarea rapidă pe lamă, folosind ca antigen o suspensie formolată 0,5% și conținînd 0,03% cristal violet.

În clinici, pe lîngă examenul bolnavului, se recurge, în vederea diagnosticului, la proba alergică. Se injectează, în acest scop, intradermic, 0,1 ml dintr-o suspensie de germeni morți. Reacția pozitivă se traduce prin hiperemie locală, urmată, uneori, de necroza pielii și de tulburări generale. Sensibilitatea față de alergenul tularemic se conservă mult timp la oamenii trecuți prin boală. Jirovec și colaboratorii (1953) observă, de exemplu, că și după 18 ani de la trecerea prin boală au obținut, la om, reacții intense locale și generale la tularină.

Profilaxia tularemiei la om și animale constă din distrugerea animalelor purtătoare de germeni sau moarte din cauza infecției. Cum această operație nu poate fi totdeauna realizată, populația, în regiunile tularemice, va fi instruită asupra pericolelor pe care le prezintă manipularea animalelor purtătoare de germeni. De asemenea, dezinfecția constituie un mijloc eficace de prevenire a infecției la om și animale. Vaccinarea a fost încercată la animalele de laborator și diverși cercetători au reușit să imunizeze cobaii și iepurii. Condrea și colaboratorii (1954), conferă șoarecilor o imunitate foarte solidă, folosind, drept vaccin, o cultură vie a unei tulpini atenuate.

Tratamentul se face numai la om și se folosește, cu bune rezultate streptomicina, 5—10 g în doze zilnice de 0,5 g. Acest antibiotic exercită o acțiune bacteriostatică și bacteriolitică asupra germenului (Sakurai şi col. 1954). Sulfamidele şi penicilina nu dau rezultate. Condrea şi colaboratorii (1954) au folosit, ca tratament, un vaccin constituit din germeni vii şi atenuaţi.

Pasteurella pseudotuberculosis Topley şi Wilson, 1936

Sinonim: *Bacterium pseudotuberculosis rodentium* Lehmann şi Neumann, 1896

Germenul este semnalat pentru prima oară de Malasez şi Vignal în 1883. Autorii, inoculînd la cobai materialul cazeos recoltat dintr-un abces de la un copil, observă la cobaiul mort în urma inoculării prezenţa în organele interne (ficat, splină) a unor noduli asemănători celor tuberculoşi, dar care conţin germeni diferiţi de bacilul Koch. Germenii formează în noduli grămezi zoogleice. Injectarea unor produse provenind din materiale suspecte de tuberculoză a dat, în mîinile altor cercetători, rezultate similare. O infecţie asemănătoare celei experimentale a fost apoi identificată şi la cobaii care nu fuseseră inoculaţi cu vreun produs patologic.

Agentul etiologic al pseudotuberculozei, a fost cercetat de Nocard. Poziţia acestui microb în sistematica bacteriană nu este bine clarificată. El este apropiat de unii cercetători, aşa cum am văzut mai sus, de pasteurele, în special, de *Past. pestis,* şi numit *Past. pseudotuberculosis.*

Caractere morfologice şi afinităţi tinctoriale. Germen polimorf. În frotiurile din culturi, cele mai multe elemente sînt rotunde, cocoide; printre ele se găsesc şi forme în bastonaş, de lungimi variabile. Celulele bacteriene sînt de obicei izolate, putînd constitui însă şi lanţuri de 15—20 de elemente sau mai mult. Dimensiunile formei rotunde variază în jurul cifrei de 1 micron. Lungimea formelor în bastonaş atinge 2 microni.

Mobilitatea sa este îndoielnică. Unii cercetători îl socotesc imobil, iar alţii mobil. Se afirmă că bacteria este mobilă cînd este cultivată la temperaturi vecine cu 22°C, dar este imobilă cînd cultura a fost incubată la 37°C. Mobilitatea este datorită prezenţei unui cil situat la unul din polii celulei.

Germenul este nesporulat şi Gram negativ. Se colorează cu culorile obişnuite.

Caractere culturale şi biochimice. Se cultivă pe medii obişnuite, producînd, în bulion, o tulburare uniformă şi intensă, iar pe agar colonii rotunde, de culoare cenuşie, asemănătoare celor constituite de alţi germeni Gram negativi.

Unii autori afirmă că aspectul culturii în bulion variază în raport cu temperatura de incubaţie. La temperatura camerei, bulionul este uniform tulbure, dar la 37°C germenii sînt aglutinaţi, constituind flocoane care plutesc în lichid. La suprafaţa mediului se poate constitui o membrană, din care se desprind, în mod continuu, flocoane care atîrnă în lichid sub forma de stalactite.

S-au descris variante S şi R. Zlatogorov şi Moghilevskaia afirmă că variantele R sînt fermentativ mai active decît cele S.

Se dezvoltă în lapte, pe care îl alcalinizează, dar nu-l coagulează. Creşte slab pe cartof, dînd o cultură de culoare ciocolatie, care aminteşte cultura bacilului morvei. Se dezvoltă în medii alcaline. Temperatura optimă de înmulţire este de 37°C. Nu se dezvoltă la temperaturi mai mici de 8°C sau mai mari de 41°C. La 37°C, cultura este vizibilă după 12—24 de ore, iar la 8—10°C după 7 zile. Nu lichefiază gelatina. Nu produce indol şi SH_2. Nu reduce nitraţii.

Fermentează, cu producţie de acizi, dar nu de gaze, glucoza, levuloza, maltoza, trehaloza, galactoza, arabinoza, ramnoza, manita, xiloza şi glicerina. Nu atacă lactoza, zaharoza, rafinoza, dulcita, sorbita, eritrita, inosita şi insulina. Se constată, de altfel, o mare variabilitate în ceea ce priveşte fermentarea substanţelor hidrocarbonate. Unii autori au izolat o tulpină care nu fermenta iniţial decît levuloza, însă, după mai multe treceri, atacă zaharurile obişnuite acestei specii. Germenul pare a poseda faţă de levuloză o enzimă constitutivă, iar pentru celelalte substraturi enzime adaptive.

Habitat şi rezistenţă. Germenul se găseşte fie ca saprofit, în apă, fie ca epifit în organismul animal.

Temperatura de 56°C îl omoară în 30 de minute. Antisepticele sînt foarte active. Sublimatul 0,1% îl omoară imediat, fenolul 1% în cîteva minute. Este sensibil la uscăciune şi lumină. În mediile de cultură se conservă un timp îndelungat, 1 an şi chiar mai mult.

Structura antigenică. Larche (1927), examinînd 50 de tulpini, a găsit că toate aparţineau aceluiaşi tip serologic. Cercetările ulterioare (Arkwright, 1927 Schutze, 1932, Kauffmann 1933, Thal, 1954, Girard şi Chevalier, 1955) au dovedit însă existenţa la această specie a unei structuri antigenice complexe (antigenii H flagelari şi antigeni R şi S somatici) şi deci a mai multor grupe serologice. Kauffmann, Thal identifică cinci grupe serologice notate, de acesta din urmă, cu cifrele romane I, II, III, IV şi V. Cele mai multe tulpini izolate în Europa aparţin tipului I. Astfel, Thal găseşte că cele 246 de tulpini cercetate se grupau astfel:

grupa I	186
„ a II-a	44
„ a III-a	14
„ a IV-a	1
„ a V-a	1

Girard şi Chevalier în Franţa, examinînd 56 de tulpini, găsesc că 51 făceau parte din tipul I, 2 din tipul II şi 3 din tipul III.

Tipizarea se face prin aglutinări pe lamă (metoda rapidă) cu ser obţinut pe iepure prin inocularea intravenoasă a suspensiilor microbiene, fierte timp de 24 ore.

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Germenul nu conţine în somă şi nu pune în libertate în mediile de cultură o toxină cu acţiune specifică. Corpii microbieni, în doze mari şi repetate, produc focare necrotice şi moartea cobaiului, dar sînt inofensivi pentru şobolan. Filtratele de cultură s-au arătat în mîinile multor cercetători inactive; totuşi, Ramon a observat moartea unui cal care a fost inoculat cu 50 ml de filtrat de cultură veche de 4 săptămîni. Din corpii bacilari s-a putut extrage o nucleoproteină, care însă era lipsită de toxicitate pentru cobai şi şobolan.

Tipul leziunilor produse denotă, însă, că germenul secretă o toxină necrozantă, care, probabil, nu este activă decît în doze mari şi repetate.

Infecţia experimentală. Bacilul pseudotuberculozei, în condiţii experimentale, este patogen pentru cobai, iepure, şoarece, vrabie, porumbel şi curcan. Găina şi şobolanul sînt practic refractari. Calea de inoculare şi virulenţa germenului determină tipul infecţiei. Calea intraperitoneală este cea mai severă şi produce constant infecţia la animalele receptive. Cobaii şi iepurii, infectaţi pe această cale, cu doze mari de cultură virulentă, mor în 2—3 zile, prezentînd la autopsie o peritonită necaracteristică. Dozele moderate sau mici produc leziuni nodulare, caracteristice acestei infecţii, în ficat şi splină. Administrată pe cale subcutană, cultura virulentă omoară constant cobaiul, dar numai rareori, iepurele. La primul, infecţia evoluează în 10—12 zile şi la autopsie se găsesc leziuni caracteristice. La iepure se produce de multe ori, un abces local, vindecabil, alteori animalul se caşectizează şi moare după 1—3 luni sau mai mult. Inocularea culturii pe cale intravenoasă produce constant infecţia. Calea digestivă este puţin propice şi cobaiul nu se infectează decît dacă i se administrează cantităţi mari de cultură în repetate rînduri. Moartea survine, în acest caz, după 2—3 săptămîni.

Infecţia a putut fi reprodusă la pisică pe cale digestivă prin administrări repetate de cultură. Administrarea culturii era precedată de o ingestie de bilă (Goret şi col.).

INFECŢIA NATURALĂ LA ANIMALE ŞI OM

Specii receptive şi patogenie. Pseudotuberculoza evoluează sub forma de enzootii, în special la cobai şi iepure, şi în unele ţări şi la păsări. Goret şi colaboratorii o semnalează la pisici. La celelalte specii nu se găsesc decît cazuri izolate, care constituie surprize de autopsie. La noi în ţară, infecţia este relativ rară chiar la cobai şi iepuri.

Germenul pare a fi răspîndit în natură şi poate fi ingerat o dată cu alimentele. Infecţia naturală se face pe cale digestivă, iar difuzarea germenului, în diverse organe, pe cale limfatică. Pătrunderea bacteriei în organism nu produce cu regularitate o infecţie aparentă. Se constată astfel că unii cobai sînt purtători, fără a fi bolnavi. Infecţia inaparentă poate deveni însă aparentă, în urma inoculării diverselor produse biologice, fapt de care trebuie să se ţină seama în judecarea unor rezultate experimentale, în sensul că un cobai infectat experimental în scop de diagnostic poate muri cu leziuni de pseudotuberculoză, dar aceste leziuni nu sînt în mod obligatoriu datorite prezenţei germenului în materialul injectat.

La cobai, infecţia spontană prezintă două aspecte clinice: acut şi subacut. In forma acută, boala durează 1—2 zile şi se manifestă prin tristeţe, inapetenţă şi dispnee. Animalul stă ghemuit, cu părul zbîrlit. La autopsie se constată leziuni congestive de tip septicemic în toate organele interne.

Forma subacută durează 2—4 săptămîni şi, în acest interval de timp, animalul slăbeşte considerabil. Palpînd regiunea abdominală se pot descoperi uşor ganglionii limfatici hipertrofiaţi şi care se prezintă sub forma unor noduli, cuprinşi în masa intestinală. La autopsie se constată hipertrofia ganglionilor limfatici şi prezenţa nodulilor pseudotuberculoşi, mai ales în ficat. Splina este mărită, prezentînd largi zone de necroză. Pulmonii conţin rar leziuni, iar rinichiul numai excepţional. Nodulii pseudotuberculoşi au o culoare cenuşie şi dimensiuni variabile. Ei sînt izolaţi sau confluaţi. Unii din ei, mai ales la începutul bolii, sînt translucizi, au mărimea unor seminţe de cînepă sau mai mici, asemănîndu-se astfel, macroscopic, cu nodulii tuberculoşi. Nodulii pseudotuberculoşi, spre deosebire de cei tuberculoşi, nu conţin însă celule gigante. La păsări, la periferia zonei necrotice, se pot găsi însă celule gigante, asemănătoare celor ce se observă în nodulii tuberculoşi.

În formele de boală cu o durată mai lungă, nodulii pseudotuberculoşi din diversele organe au o culoare cenuşie, opacă şi un conţinut net cazeos.

Geneza şi aspectul histologic al nodulului. Nodulii pseudotuberculoşi se formează, de regulă, în lumenul capilarelor, ca o consecinţă a obstruării lor cu bacilii şi celulele endoteliale. Celulele din jurul capilarului obstruat degenerează şi se necrozează. Iniţial, nodulii sînt constituiţi din celule epitelioide, apoi intervin elemente limfoide şi polinucleare. Mai tîrziu, centrul nodulului se necrozează şi se transformă într-o masă amorfă, de formă neregulată şi înconjurată de o coroană de celule cu nucleu alungit sau rotund. În coroana celulară se observă mulţi nuclei picnotici, precum şi resturi nucleare.

La iepurii de casă şi de cîmp, pseudotuberculoza este mult mai rară. Animalele bolnave se caşectizează. La autopsia lor se constată noduli necrotici în rinichi, splină şi peretele intestinal.

Apendicele cecal este îngroşat şi conţine, în pereţii săi, numeroşi noduli necrotici. Ganglionii limfatici sînt hipertrofiaţi şi includ, în masa lor, numeroase abcese miliare.

Pisica se infectează destul de rar. Goret şi colaboratorii (1955) îi semnalează existenţa în Franţa unde s-a identificat, după 1943, un număr de 25 de cazuri, afirmînd că boala este mai frecventă decît se afirmă. Infecţia se întîlneşte în special la animale în vîrstă de peste 3 ani şi rar la animalele tinere. Pisicile care prind rozătoare sînt cele mai frecvent afectate. Infecţia spontană pare că se face pe cale digestivă. Germenii se pare însă că nu traversează mucoasa intactă, ci numai în urma unei lezionări a ei.

Boala evoluează clinic la unele animale, inaparent la altele. La primele se observă inapetenţă, tristeţe, vărsături, diaree rebelă, respiraţie dispneică, febră, 39,5—40°C. Animalul slăbeşte devenind cahectic, după cîteva săptămîni de boală. Palparea abdomenului, în această fază avansată, este dureroasă şi în ficat se pot descoperi uneori formaţii nodulare. Presiunea pe ultimele două vertebre dorsale provoacă reacţii intense de apărare, deşi animalul este în stare de prostraţie.

Boala sfîrşeşte de obicei cu moartea. La autopsia unor animale se găseşte o hepatită necrotică de tip nodular.

Vulpile argintii sînt receptive (Ejeland, 1947). Boala se întîlneşte mai ales la animale insuficient şi incomplet alimentate. Tulpina izolată de Ejeland era patogenă pentru vulpe pe cale intravenoasă, dar nu pe alte căi.

Urbain şi colaboratorii (1944) au descris o infecţie la o *leoaică* în captivitate; la autopsie s-au găsit 25 l de lichid ascitic, noduli necrotici în ficat şi congestie pulmonară.

La păsări, infecţia naturală se întîlneşte la puii de curcă şi puii de găină, precum şi la porumbei, răţuşte, fazani şi canari. Dintre aceste specii, curcanii par a fi cei mai sensibili şi la ei se pot produce, în unele cazuri, pierderi serioase. Apariţia infecţiei este condiţionată de prezenţa unor factori ajutători, reprezentaţi prin stări parazitare, avitaminoze etc.

Infecţia poate evolua acut, septicemic, sau subacut. În prima formă se găsesc la autopsie, leziuni congestive. În forma subacută, la animalele moarte, se găsesc leziuni nodulare de tip necrotic, în special în splină. Ficatul şi pulmonul nu conţin decît rareori asemenea leziuni.

Ierbivorele sînt socotite refractare, dar cazuri sporadice au fost întîlnite. Stamatin şi Marica (lucrare inedită) au găsit, la o oaie în lactaţie, o mamită produsă de bacilul pseudotuberculozei. Infecţia, fiind iniţial socotită de origine stafilococică, s-a procedat la ablaţia mamelei, dar animalul a murit cîteva zile după operaţie. La autopsie s-au constatat numeroşi noduli necrotici în ficat. Din aceşti noduli, ca şi din mamela extirpată, s-a izolat un bacil Gram negativ, care, pe cale intraperitoneală, omoară cobaiul în 24 de ore. Bacteria fermenta glucoza, galactoza şi levuloza şi era inactivă faţă de lactoză şi zaharoză. Rajocopalan şi colaboratorii (1944) au descris infecţia la capră. Animalul a prezentat la autopsie noduli necrotici în ficat şi pulmon. Tulpina izolată era patogenă pentru iepuri şi capre, la care producea pneumonii mortale.

Omul este receptiv, dar infecţia este, cu toate acestea, extrem de rară. În cazurile descrise în literatură, localizările sînt, de cele mai multe ori, gastrointestinale sau pulmonare, şi mai rare în alte organe. Forma gastrointestinală simulează febra tifoidă şi se traduce prin febră, 39—40°C, cefalee, hipertrofia ficatului şi a splinei. Hemoculturile sînt frecvent pozitive. La autopsie se pot găsi frecvent noduli pseudotuberculoşi în ficat. Ei pot atinge sau chiar depăşi mărimea unui bob de mazăre. Ganglionii mezenterici sînt hipertrofiaţi. După Knapp şi Mahshoff (1954), germenul are un rol important în adenopatia mezenterică.

Localizările pulmonare se pot întîlni de asemenea şi la om şi evoluează ca bronhopneumonii şi pleurezii purulente.

Diagnosticul clinic este foarte dificil. În cazul hepatitei nodulare, palpaţia ne poate da unele indicaţii. Reacţiile alergice pot fi de asemenea folosite. Alergenul se extrage din celulele bacteriene care sînt supuse unei digestii pepsice sau întîi acţiunii ultrasunetelor şi apoi digestiei pepsice. El se injectează pe cale subcutană şi reacţia este pozitivă cînd administrarea alergenului a produs o creştere a temperaturii corporale de 1,5 la 2°C.

Temperatura corporală începe să crească după 7—8 ore de la administrarea alergenului şi ea se menţine timp de cîteva ore.

Diagnosticul bacteriologic al infecției pseudotuberculoase nu întîmpină dificultăți. Germenul se izolează cu ușurință din sînge și mai ales din leziunile necrotice. Identificarea sa se face prin examenul caracterelor morfologice, culturale și de patogenitate.

Reacțiile serologice, în special seroaglutinarea și fixarea complementului pot fi folosite la identificarea germenului, ca și a infecției. Din punct de vedere anatomo-patologic, leziunile nu pot fi, mai ales, la cobai, decît cu greu deosebite de cele tuberculoase. Trebuie amintit că și salmonelele pot produce leziuni necrotice nodulare în diverse organe, mai ales în ficat, — leziuni care macroscopic pot fi confundate cu cele provocate de *Past. pseudotuberculosis*.

Profilaxie și tratament. In crescătoriile de cobai, infecția are caracter contagios ; în consecință, se vor lua, în scop profilactic, măsuri de izolare și dezinfecție.

Cobaii pot fi imunizați activ prin inocularea culturilor omorîte prin căldură. O singură injecție apără animalul față de o infecție de control făcută pe cale subcutanà, dar nu față de una practicată pe cale intraperitoneală. Inocularea repetată a unui asemenea vaccin ar conferi cobaiului o rezistență însemnată.

Nu există date cu privire la tratamentul acestei infecții. Serul imun, obținut pe iepuri, este inactiv, și chiar în condiții experimentale nu protejează cobaiul.

Pasteurella romanica Cîrsteț, 1955

Germenul a fost izolat și studiat de Cîrsteț (1955) și are multe asemănări cu *Past. hemolytica*, descrisă, de Newsom și Cross în 1932. Ambii germeni nu produc indol, fermentează în comun o serie de substanțe hidrocarbonate, iar morfologic și cultural se apropie pînă la identificare. Deosebirile privesc în special activitatea hemolitică și patogenitatea. *Past. romanica* nu este hemolitică, în timp ce specia descrisă de Newsom și Cross (1932) și Stamp și col. (1955) este constant hemolitică ; *Past. romanica* este patogenă pentru iepure, șoarece, cobai și porumbel, iar *Past. hemolytica* nu este patogenă nici chiar pentru șoarece. *Past. hemolytica* a fost izolată din pneumonii de la oi și vaci de Newsom și Cross, precum și de alți cercetători (Montgomerie și col., 1938, Stamp și col., 1955, în Anglia, Stamatin și col., în R.P.R.)[1] în timp ce *Past. romanica* a fost găsită aproape constant în leziunile bronhopneumonice ale viteilor.

Morfologie. Germenul are dimensiunile și forma pasteurelei aviare sau bovine ; se prezintă sub formă de bastonaș sau de coc ; nu se dispune în grămezi sau grupări, avînd un caracter de regularitate ; în organism este totdeauna izolat. Este aciliat, asporulat și necapsulat.

Afinități tinctoriale. Gram negativ ; se colorează cu soluția Giemsa sau cu soluții de albastru de metilen, prezentînd, adeseori, centrul mai puțin intens colorat decît polii (colorația bipolară).

Medii și caractere de cultură. Se izolează pe medii cu ser sau sînge și refuză, în primele treceri, să se multiplice în medii simple (bulion sau agar, fără sînge sau ser). În laborator, cu timpul se adaptează şi creşte apoi pe asemenea medii. În bulion produce în 24 de ore o cultură omogenă; poate forma inel la suprafaţă; prin învechire, germenii sedimentează, constituind un depozit, care, prin agitare, se ridică în tirbuşon.

Creşte în bulion cu carne (Tarozzi), tulburînd uniform lichidul.

Pe agar, formează colonii mici (0,5—4 mm), rotunde, bombate, uşor mucoase.

Nu creşte pe cartof glicerinat.

Temperatura optimă de dezvoltare este de 37°C; creşte la 18—20°C, dar nu la 6°C.

Proprietăţi biochimice. Germenul fermentează glucoza, zaharoza, maltoza, xiloza, manita, fructoza, galactoza, dextrina şi amidonul, dar nu atacă arabinoza, adonita, lactoza, ramnoza, rafinoza, salicina, inulina şi dulcita.

Past. hemolytica fermentează dextrina, fructoza, glucoza, galactoza, glicerina, inosita, lactoza, maltoza, rafinoza, sorbita, zaharoza şi xiloza şi este inactivă faţă de arabinoză, dulcită, inulină, manoză, ramnoză şi salicină (Newsom şi Cross, 1932). După Stamp şi col. (1955) toate tulpinile fermentează glucoza, zaharoza şi manita.

Produce hidrogen sulfurat în cantităţi reduse.

Nu produce indol.

Nu lichefiază gelatina, nu coagulează laptele.

Nu hemolizează globulele roşii de iepure.

Rezistenţă. Se distruge în 15 minute la 60°C.

Penicilina, în concentraţie de 0,1 U.I. pe 1 ml, inhibă dezvoltarea germenului.

Aceleaşi rezultate se obţin cu 0,1 mg de streptomicină pe 1 ml şi cu 0,1 sau chiar 0,01 mg de aureomicină pe 1 ml. Sulfatiazolul este inhibitor în concentraţie de 1/5 000 g pe 1 ml.

Ecologie. Cîrsteţ a izolat germenul din leziunile pulmonare ale viţeilor morţi cu simptome şi leziuni de bronhopneumonie, precum şi din secreţiile nazale ale viţeilor sănătoşi, provenind din efective contaminate. La animalele adulte din focar — vaci — germenul nu a fost găsit nici în secreţiile nazale şi nici în lapte. De asemenea nu s-a putut izola nici din pulmonii bovinelor sacrificate în abator.

Structură antigenică. Germenul pare a fi lipsit de antigenitate, căci inoculat la oaie, în repetate rînduri, nu produce anticorpi aglutinaţi sau protectori (Cîrsteţ, 1955). De asemenea, şoarecii inoculaţi cu culturi formolate, adsorbite sau nu pe hidroxid de aluminiu, nu capătă nici un fel de rezistenţă faţă de infecţia experimentală. Nu are antigeni comuni cu *Past. animalium*. Într-adevăr, serurile anti- *Pasteurella animalium* nu protejează şoarecii faţă de o infecţie cu *Past. romanica*. De asemenea serurile preparate cu *Past. hemolytica* nu aglutinează tulpinile de *Past. animalium* şi invers.

Echipament toxic. În filtratele culturilor vechi de 14 zile, ca şi în corpii microbieni se găsesc principii toxici care inoculaţi pe cale intravenoasă la iepuri produc leucopenie şi eventual moartea animalului. Filtratele de cultură omoară şoarecele (inoculare intravenoasă) în cîteva minute (doza 0,1 ml) sau cîteva ore (doza 0,01 ml).

Infecţia experimentală. Germenul este patogen pentru animalele de laborator, şoarece, cobai, iepure şi porumbel.

Şoarecele poate fi infectat pe diverse căi. Astfel, pe cale intraperitoneală doza de 10^{-6}ml de cultură în bulion de 24 de ore produce, de regulă, o infecţie mortală în 1—3 zile. Pe cale subcutană, pentru a produce o infecţie mortală sînt necesare doze mai mari ; 10^{-3} ml de cultură în bulion de 24 de ore omoară, de exemplu, şoarecele în 3—5 zile. Animalul prezintă în timpul vieţii o stare de abatere gravă, dispnee, diaree, iar după moarte un edem gelatinos şi hemoragic întins pe toată faţa abdominală, precum şi congestia organelor interne. Pe cale intracerebrală cultura omoară şoarecele în 24 de ore. Pe cale nazală unele tulpini produc o pneumonie mortală în 4—5 zile.

Cobaiul este destul de receptiv ; el este mult mai receptiv pentru această pasteurelă decît pentru tulpinile de *Pasteurella* izolate din holera aviară sau din septicemia hemoragică a bovinelor. Astfel, pe cale subcutană, tulpinile de *Past. romanica* produc o infecţie mortală în 4—6 zile. Animalul prezintă la autopsie un edem hemoragic întins pe toată faţa abdominală, cu punct de plecare la locul de injecţie. Cobaii astfel inoculaţi slăbesc foarte mult. Agonia este lungă. Pe cale intraperitoneală dozele mari de cultură în bulion (0,5 ml) produc moartea în 24 de ore.

Iepurele este mai puţin sensibil. Pe cale intravenoasă doza de 1 ml de cultură în bulion de 24 de ore îl omoară într-o zi. Pe cale subcutană, doza de 0,5 ml produce o leziune locală — edem gelatinos şi hemoragic — care se poate resorbi, animalul rămînînd în viaţă. Moartea poate uneori surveni după 5—13 zile de la infecţie.

Porumbelul este puţin receptiv ; el face o infecţie mortală numai cînd este inoculat cu doze mari de cultură. Astfel, 0,5 ml de cultură în bulion de 24 de ore, injectat subcutan, îl omoară în 24 de ore. Dozele mai mici sînt inactive.

Dintre animalele domestice, Cîrsteţ a folosit în experienţele sale găina, oaia şi viţelul.

Găina este refractară.

Oaia poate fi socotită şi ea refractară, deoarece dozele mari de cultură, 20 ml, administrate pe cale subcutană sau intravenoasă nu produc nici o modificare perceptibilă. Administrat direct în canalul galactofor, germenul produce o mamită atrofică. Mieii sînt tot aşa de rezistenţi ca şi oile adulte.

Viţelul are o rezistenţă însemnată : 5 ml de cultură, inoculată subcutan, produce un abces local vindecabil şi neînsoţit de modificări în starea generală.

Infecţia naturală

Este încă prematur să se afirme că bronhopneumonia viţeilor este produsă exclusiv de această bacterie. Arhanghelski (1953), Hupbauer şi colaboratorii (1941) consideră că agentul primar al bronhopneumoniei este un virus şi că bacteriile se grefează pe leziunile produse iniţial de acest virus, care ar avea caractere comune cu virusul gripei purceilor şi cu cel al tusei convulsive a cailor. Fără a infirma natura virotică a infecţiei, cunoaşterea acestui germen, găsit, cel puţin în R.P.R., aproape constant în leziunile pulmonare, şi adeseori în stare pură, mai ales la limita dintre ţesutul pulmonar lezat şi normal, este importantă. Trebuie considerat ca un microb care are un rol important în desfăşurarea infecţiei, dacă nu şi în apariţia ei. Adeseori, de altfel, infecţiile secundare dau gravitate deosebită unui proces primar, care fără ele, ar evolua sub o formă benignă sau chiar inaparentă.

Bronhopneumonia este răspîndită în multe ţări, şi, sub formă de focare, se întîlneşte frecvent şi în R.P.R. Evoluează ca o enzootie de grajd cu redusă tendinţă de difuziune. Boala apare, de regulă, la viţei, în primele săptămîni după naştere şi în efective în care alimentaţia şi igiena prezintă multe lipsuri. Iniţial ea se manifestă printr-o stare rebrilă şi un catar seros al căilor respiratorii şi al mucoasei conjunctive. Aceste prime simptome pot fi însoţite sau urmate de diaree care durează 1—2 zile. Apoi febra dispare şi îşi fac apariţia leziunile pulmonare, care constau din traheobronşită şi bronhopneumonie. Focarele de pneumonie, în cazul cînd animalul nu moare, se resorb încet şi nu dispar decît după cîteva săptămîni sau luni.

Modificări anatomice. La autopsie se găsesc constant leziuni pulmonare. Ele constau din focare de bronhopneumonie, localizate în zonele anterioare ale pulmonului, şi anume la lobii apicali, cardiaci, azigos şi uneori la părţile anterioare ale lobilor diafragmatici. Regiunile pulmonare lezate sînt dure, cu suprafaţa colorată în galben-cenuşiu; pe acest fond galben-cenuşiu se pot observa şi focare miliare de altă culoare.

Diagnosticul clinic şi anatomo-patologic nu prezintă dificultăţi. În laborator, izolarea speciei *Past. romanica* confirmă diagnosticul de bronhopneumonie, dar absenţa ei nu o poate exclude. Într-adevăr, din 18 pulmoni cercetaţi Cîrsteţ a izolat bacteria din 15.

Profilaxia se sprijină, în special, pe aplicarea strictă a regulilor de alimentaţie şi măsurilor de igienă. Un vaccin preparat din specia *Past. romanica* nu conferă viţeilor protecţia dorită.

Tratamentul se face cu antibiotice — penicilină, streptomicină sau alt antibiotic activ— obţinîndu-se rezultate pozitive mai ales atunci cînd leziunile pulmonare nu sînt prea întinse şi nu au compromis iremediabil pulmonul.

BIBLIOGRAFIE

ALEXANDRESCU D. — Observaţiuni asupra unei epidemii de barbone (guşter) la bivoli, *Arhiva veterinară* 1907, 4, p. 70.
ALLOT E. N. şi col. — *J. Path. Bact.*, 1944, 56, p. 411.
BABEŞ V., STARCOVICI C. şi CĂLINESCU — Febra tifoidă a calului, Anuarul Inst. de patologie şi bacteriologie, Bucureşti 1889, 1, p. 229, p. 250 şi p. 254.
BADESCU ST. şi DRĂGHESCU — Barbone la bivol, *Rev. de med. Veterin.*, 1903, nr. 3, p. 4.

BAIN S. — Imunizarea contra pasteurelozelor la bovine, *Off. Int. Epizoot.*, 1954, 42, p. 256.

BAIN S. — Studii asupra septicemiei hemoragice la bovine, *Br. Vet. J.* 1954, 110, p. 519, 1955, 111, p. 492 şi p. 511 şi 1956, 112, p. 115.

BALOZET P. — Pasteurella bipolaris, *Teză,* Alfort, Paris, 1926.

BALDREY — Vaccinul sensibilizat în septicemia hemoragică, *J. Trop, Veterin Sc.* 1911, 6, nr. 3, *Ref. Bull. Inst. Past.,* 1912, p. 142.

BENJAMIN M. — Citologie sanghină la bovinele bolnave de Pasteureloză, *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 1953, 123, p. 209.

BISANTI — Vaccinarea contra holerei aviare, prin toxine, *Revista de medicină veterinară,* 1904, p. 457.

BLIN şi CAROUGEAU — Cercetări experimentale asupra bolii barbone a bivolilor. Vaccinare şi seroterapie, *Bull. Soc. Centrale Méd. Vét.,* Paris 1901, p. 571.

BOLLINGER — Asupra unei noi boli a bovinelor şi animalelor sălbatice, München. 1878.

BENDA R. şi HEYBERGER K. — Izolarea speciei P. pseudotuberculosis de la Ixodes ricinus, *Tsecoslov. Biol.,* 1953, 2, p. 380.

BOUCEK Z. D. — Despre o infecţie la pisici produsă de bacteria septicemiei hemoragice, *Zbl. f. Bakt.,* O, 1910, 53, p. 279.

BRYGOO R. E. şi COUDURIER J. — Acţiune in vitro a antibioticelor asupra a 101 tulpini de Past. pestis, *Ann. Inst. Past.,* 1955, 89, p. 118.

BUGEAC T. şi col. — Boala bărbiţelor la cocoşi, *Probleme de epizootologie şi microbiologie,* 1956, 5, p. 5.

BURLACU I. — Incercări de vaccinaţiune contra holerei păsărilor prin vaccin formolat. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1926.

CARTER G. R. — Un antigen capsular specific de tip la Past. multocida, *Canad. J. Med. Sci.,* 1952, 30, p. 48.

CARTER G. R. — Studii asupra unui vaccin preparat din embrionii de găină cu Pasteurella. Valoarea imunizantă a bacteriei în bulion şi a vaccinului pe embrionii de găină, *Am. J. Vet. Res.,* 1950, 11, p. 252.

CARTER G. R. şi BYRNE J. L. — Studii serologice asupra pasteurellei, *Cornell. Vet.,* 1953, 43, p. 223.

CARTER G. R. şi ANNAU E. — Izolarea polizaharidului din diverse colonii de Past. multocida, *Am. J. Vet. Res.,* 1953, 14, p. 475.

CARTER G. R. — Studii asupra Past. multocida. I. Proba hemaglutinării pentru identificarea tipurilor serologice, *Am. J. Vet. Res.,* 1955, 16, p. 481.

CALHOUN E. L. — Identificarea tularemiei la Amblyomma americanum şi la cîini în Arkansas, *Am. J. trop. Med. Hyg.,* 1954, 3, p. 360.

CERNAIANU C. — Eliminarea constantă a microbului holerei aviare prin urină şi foarte rar prin bilă în pasteureloza experimentală a iepurelui, *C. R. Soc. Biol.,* 1924, 90, p. 136.

CERNAIANU C.— Vaccinarea găinilor şi a iepurilor contra holerei aviare, *C. R. Soc. Biol.,* 1924, 90, p. 524 şi p. 530.

CERNAIANU C. — Asupra holerei aviare, o infecţie condiţionată prin întreţinere, hrană şi exploatare, *Zeitschr. f. Infektionkrankheiten, parasitäre Krankh. u. der Hyg. der Haustiere,* 1942, 58, p. 142.

CERNEA I. şi col. — Studiul epizootologic al pasteurelozei bovine în Ardeal, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1956, 6, p. 105.

CERNEA I., BUTURA I. şi CIOUCA T. — Cercetări asupra valorii imunogene a vaccinului antipasteurelic bovin formolat. *Comunicare la sesiunea de Referate a Institutului de patologie şi igienă animală,* ianuarie, 1957.

CERNEA I., BUTURA I. şi CIOUCA T. — Studiu epizootologic şi experimental asupra pasteurelozei porcine. *Comunicare la sesiunea de Referate a Institutului de patologie şi igienă animală,* ianuarie, 1957.

CHAMBERLAND CH. et JOUAN C. —. Pasteurelele, *Ann. Inst. Past.,* 1906, 20, p. 81

CITRON J. u. PUTZ — Asupra imunizării contra holerei găinilor, bolii porcilor şi animalelor sălbatice cu extracte bacteriene (Agresine artificiale după Wassermann — Citron), *Zf. Hyg. Infectionskr.* 1907, 56, p. 145.

CIRSTEŢ J. — Cercetări asupra florei microbiene în pneumonia enzootică a viţeilor din R.P.R., *Probleme de microbiologie veterinară,* 1954, nr. 3, p. 33 şi *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1955, 5, p. 75.

CSONTOS I. — Asupra unei forme rare de holeră aviară (boala bărbiţelor), *D. tierärzt. Wschr.,* 1930, p. 417.

CURASSON G. şi DIDIER L. — Cercetări asupra pasteurelozelor ovine şi bovine (Frecvenţa în Sudanul Francez), *Réc. Méd. Vét. Exot.,* 1932, nr. 3.

CONDREA P. şi col. — Contribuţii la tratamentul tularemiei cu vaccin antitularemic viu. *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie,* 1954, nr. 2.

CONDREA P. şi col. — Contribuţii la studiul imunizării artificiale active antitularemice. *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie,* 1954, nr. 4, p. 60.

CORBEANU D. A. — Cercetări asupra pneumoniei contagioase la porc. *Teză Şc. sup. Med. Vet.,* Bucureşti, 1896.

COZE L. şi FELTZ V. — Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infectieuses, Paris, 1872.

DARIE T. — Imunizarea activă în holera aviară. *Teză Fac. Med. Vet.* Bucureşti, 1925.

DE BONI — Imunizarea iepurilor contra pasteurelei bivolilor, *Giornale Internazionale delle scienze mediche,* 1909.

DELPY L. şi RASTEGAR R. — Asupra unei noi metode de vaccinare contra pasteurelozei bovinelor şi bubalinelor. *Rev. d'Immunologie,* Paris, 1938, 4, p. 322.

DELPY P. L. — Metode de imunizare activă contra pasteurelozelor septicemice. *Off. Int. Epizoot.,* 1952, 38, p. 209.

DJUMHADZE A. P. şi DOSICEV A. I. — Obţinerea serului trivalent contra septicemiei hemoragice a bovideelor, ovinelor şi porcinelor prin metode de hiperimunizarea bovideelor cu antigen. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnîn preparatov,* 1952, 3, p. 307.

DOUGHERTY E. — Eficacitatea mai multor agenţi imunizanţi în combaterea holerei păsărilor, *Cornell Vet.* 1953, 43, p. 421.

FRAS A. şi ALERAJ Z. — Proba de aglutinare rapidă pentru diagnosticul tularemiei, *Veter. Arhiv. (în poloneză),* 1954, 24, p. 191.

GAFFKY — *Mitteil. a. d. Kais. Ges. Amt.,* 1881, 1, p. 50.

GAMELEIA N. — Asupra etiologiei holerei găinilor, *Zbl. f. Bakt.,* 1888, 4, p. 161, *Ref. Ann. Inst. Past.,* 1888, 2, 510.

GANIEV C. T. şi AGABIAN M. M. — Incercarea vaccinului contra pasteurelozei vitelor cornute mari şi a bivolilor. în Azerbaidjan, *Veterinaria,* 1952, nr. 6, p. 30

GÄRTNER — O nouă boală la pisici, *Zbl. f. Bakt.,* O., 1909, 51, p. 232.

GAZAREAN S. V. şi POGOSEAN S. L. — Vaccinarea contra pasteurelozei, *Veterinaria* 1949, nr. 3, p. 16.

GAZAREAN S. A. — Tratamentul pasteurelozei experimentale a taurinelor cu penicilină, *Veterinaria,* 1953, nr. 5, p. 24.

GAY P. F. şi colaboratorii — Agents of Diseases and host resistance, Londra, 1935, p. 730.

GIRARD G. şi CHEVALIER A. — Clasificarea serologică a 56 tulpini de Pasteurella pseudotuberculosis, din care 52 izolate în Franţa, *Ann. Inst. Pasteur,* 1955, 88, p. 227.

GIRARD G. — Toxina speciei Pasteurella pseudotuberculosis. Analogiile sale cu toxina de la Past. pestis, *Ann. Inst. Pasteur,* 1950, 79, 33.

GOGOAŞĂ V. — Frecvenţa purtătorilor de Pasteurella într-o enzootie de holeră aviară la raţe în plină evoluţie, *Probleme de epizootologie şi microbiologie I.P.I.A.* 1956, V, p. 13.

GOGOAŞĂ V. — Studiu epizootologic într-un focar de holeră aviară, *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1954, nr. 12, p. 67.

GORET P. şi col. — Diagnosticul experimental şi patogenia pseudotuberculozei pisicii. *Soc. s. vet.* Lyon, 1955, 57, p. 205.

GUALANDI G. — Terramicina în lupta contra holerei aviare, *Arch. Vet. Ital.* 1953, 4, p. 537.

GROSSO — Cercetări asupra imunizării contra agenţilor pasteurelozei bovine, holerei şi bolii porcilor. *Z. f. Infektionsker der Haustiere,* 1908, 4, p. 279.

HADLEY PH. — Studii asupra holerei aviare, *Zbl. f. Bakt.,* 1912, 61, p. 322.

HAROVIUC D. H. — Încercări de vaccinare contra holerei păsărilor cu vaccinuri preparate prin diferite procedee, *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1936.

HERTEL — Asupra holerei şi pestei, *Arb. a. d. Kais, Ges. Amt.,* 1904, Bd. 20, H. 3

HOLMES — Imunizarea contra septicemiei hemoragice a bovinelor, *Indian Civil Veterin. Departm. Mem,* 1909, nr. 1, *Rf. Zbl. f. Bakt. Ref.* 1909, 47, p. 187.

HULPHERS G. şi HENRICSON T. — *Svensk. Vet.,* 1943, 48, p. 245.

HUDSON R. J. — Profilaxia pasteurelozei bovine. Notă preliminară asupra clasificării tulpinilor de Past. septica şi asupra vaccinului viu, atenuat, *Off. Int. Epizoot.,* 1954, 42, p. 267.

HUEPPE — Asupra bolii animalelor sălbatice şi importanţa ei pentru economia naţională şi igienă, *Berl. Kl. Wschr.,* 1886, 23, p. 753 şi p. 794.

IGNATOVA O. V. — Proprietăţile antigenice şi imunogene ale pasteurelelor de diferite proveniente. *Infectionnie i invasionnie bolezni, Trudî Moskovskoi Veterinarnoi Akademii, Selhozghiz,* 1956, 12, p. 9.

IONESCU AL. P. — Pasteureloza la şobolani, *Arhiva Veterinară,* 1922, 16, p. 49.

IONESCU AL. P. — Holera la vrabie, *Arhiva veterinară,* 1922, 16, p. 161.

IONESCU D. — Bacteriemia cu Pasteurella în urma muşcăturilor de pisică, *Revista ştiinţelor medicale,* 1947, 36, p. 125.

IRIMINOIU GH. — Contribuţiuni la studiul pasteurelei şi pasteurelozelor în Trasilvania, *Revista de medicină veterinară şi zootehnie,* 1943, nr. 11—12, şi Sibiu 1945.

JENSEN — Monatsh. f. Tierheilkunde, 1890, 2, p. 1.

JINGA A. — Cîteva cazuri de barbone la bovine, *Arhiva veterinară,* 1905, 2, p. 71.

JIROVEC O. şi col. — Tularemia în Jihlava şi Moravia, în anii 1945—1952, *Cekosl. Hyg. Epid. Mikrobiol.,* Praga, 1953, 2, nr. 3, p. 228.

JONES F. S. — Studii asupra speciei B. bovisepticus, *J. Exp. Med.* 1921, 34, p. 561.

KAZNEV G. — Purtătorii de bacili în pasteureloza vitelor cornute mari, *Veterinaria*, 1951, nr 11, p. 35.

KERNKAMPF H. — Pasteureloza porcului, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1954, 123, p. 208.

KITT TH. — Date privind apariţia din nou a septicemiei hemoragice în Bavaria, *Jahresb. der. K. Tierarzneischule in München pro* 1887—1888, Leipzig, 1889, p. 65.

KITT TH. — Contribuţii la cunoaşterea holerei aviare şi a prevenirii ei prin vaccin. *D. Zeitschr. f. Tiermed.* 1887, 13, H. 1.

KITT TH. — Un nou mijloc de prevenire a pestei (holerei) aviare, *Monatsh f. prakt. Tierheilk.*, 1892, 3, p. 472.

KITT TH. şi MAYR — Asupra rezistenţei şi acţiunii serului în holera aviară şi pasteureloză porcină, *Monatshefte. f. Tierheilk.*, 1897, 8, p. 529.

KITT TH. — Holera aviară în „H. der path. Mikroorganismen (Kolle Wassermann)", ed. II, 1913, Bd. VI, p. 37.

KITT TH. — Imunizarea contra holerei aviare cu bacteriile septicemiei iepurilor. *Berl. tierärzt. Wschr.*, 1927, 43, p. 817.

KOROŞILOV şi LOURIE — Imunizarea per os a găinilor contra holerei aviare. *Vestnik Sovremennoi Vet.*, 1926, nr. 8, p. 24.

KRUIF P. H. — *J. Exp. Med.*, 1921, 33, p. 773, 1922, 35, p. 561 ; 1922, 36, p. 309 ; 1923, 37, p. 647.

KUJUMGIEV J. — Un nou produs imunizant contra pasteurelozei păsărilor : vaccin agresinic adsorbit şi concentrat, *Izvestia Mikrobiologhiceskaia, Inst.*, 1954, 5, p. 157.

LENORMANT G. — Presse medicale, 1941, 2, p. 946.

LIGNIÉRES J. — Contribuţie la studiul şi la clasificarea septicemiilor hemoragice a pasteurelozelor, *Ann. Inst. Pasteur,* 1901, 15, p. 734.

LITTLE P. A. and LYON B. M. — Demonstrarea tipurilor serologice la pasteurelele nehemolitice, *Am. J. Vet. Res.* 1943, 4, p. 110.

LÖFFLER — Cercetări experimentale asupra rujetului, *Arbeiten aus dem Kaiserl.* Gesundheitsamte, 1886, 1, p. 46.

LARSON C. L. şi col. — Dezvoltarea rezistenţei la şoarecii imunizaţi cu antigen solubil izolat din Bacterium tularese. *J. Immunol,* 1954, 73, p. 221.

LUSTIG A. — Asupra nucleoproteidelor bacteriene în *H. der Path. Mikroorg,* 1913, ed. II. Bd. 2, p. 1362.

MAILLET — Epizootia păsărilor, numită holera găinilor, *Réc. Méd. Vét.*, 1836, p. 300.

MAC FADYEN A. — Asupra unei toxine la B. suisepticus *Zbl. f. Bakt.*, 1907, 43, p. 143.

MALEAVIN A. G. — Obţinerea serurilor imune antipasteurelice bovin şi ovin prin hiperimunizarea cu culturi atenuate, *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo Instituta veterinarnîh preparatov,* 1953, 3, p. 216.

MANNINGER R. — Consideraţiuni critice asupra etiologiei şi profilaxiei septicemiei hemoragice, *Bull. Off. Intern. Epizoot.*, 1934, 8, p. 118.

MANNINGER R. — Tularemia, *Off. Intern. des Epizoot.*, 1951, 36, p. 168.

MANNINGER R. — Imunizarea activă contra holerei aviare. *B. tierärzth. Wschr.*, 1921. *Ref. Bull. Inst. Past.*, 1922, p. 114.

MARSH H. — Mastita la oaie produsă de Pasteurella, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1932, 81, p. 376.

MARSH H. — Rolul pasteurelei în bolile oilor, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1953, 123, p. 205.

MIKLOVICH N. şi PELLERDY L. — Cercetări privind acţiunea suspensiilor uleioase de ultraseptil în holera aviară *Acta Vet. Ac. Sci. Hung.*, 1955, 5, p. 195.

MIHAILESCU M. şi LUPU A. — Două cazuri de pasteureloză spontană la pisică. *Arhiva veterinară*, 1933, 25, p. 101.

MIHALJEVIC F. şi col. — Tularemia în Croaţia, *Higijena*, 1954, 6, p. 129.

MONTGOMERIE F. şi col. — Pneumonia enzootică la oi. *J. Comp. Path. Therap.*, 1938, 51, p. 87.

MORSCH R. şi KROGH-LUND G. — Cercetări asupra bacteriilor din grupa Pasteurella, *Z. F. Hyg.*, 1931, 112, p. 471.

MÜLLER J. — Asupra secreţiilor bacteriilor virulente ale holerei aviare la animalele bolnave, *Monatsh. f. prakt. Tierheilk*, Stuttgart, 1910, Bd. 21, H. 9 şi H. 10.

NEWSON I. E. şi CROSS F. — Septicemia hemoragică la oaie, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1923, 62, p. 759.

NEWSOM I. E. şi CROSS F. — Unele organisme bipolare găsite în pneumonie la oaie *J. Am. Vet. Ass.*, 1932, 80, p. 715.

NIKIFOROVA N. M. — Profilaxia activă în pasteureloza păsărilor şi a cornutelor mari şi mici, *Veterinaria*, 1948, nr. 10 şi *Veterinaria*, 1956, nr. 1, p. 76.

NIKIFOROVA N. M. şi PLOTNIKOVA — Cercetarea componenţilor antigenici din culturile de Pasteurella, *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo Instituta veterinarnîh preparatov*, 1952, 3, p. 206.

NICOLAU G. — Pasteureloza ecvină şi combaterea ei prin piocianază, *Arhiva veterinară*, 1911, 8, p. 210

NICOLLE M. — Notă asupra diverselor pasteurele observate în Turcia, *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, 16, p. 775.

NOVIKOV P. A. — Ciorile de primăvară, vectori ai holerei păsărilor, *Veterinaria*, 1954, nr. 4, p. 27.

ORESTE ARMANI — Microbul barbonelui bivolilor, *Zbl. f. Bakt.*, 1887, 2, p. 50.

PALYUSIK M. — Cercetări asupra etiologiei pneumoniei enzootice a purceilor, *Acta Vet. Hung.*, 1953, 3, p. 63.

PAŞOV T. P. — Frecvenţa tularemiei la animalele domestice şi metodele de diagnostic ale bolii, *Veterinaria*, 1950, 5, p. 20.

PAŞOV T. P. -- Diagnosticul diferenţial al tularemiei şi brucelozei la porc, *Veterinaria*, 1950, 7, p. 19.

PASTEUR L. — Despre bolile virulente şi mai ales despre boala vulgar numită holera păsărilor, *C. R. Acad. Sci.*, 1880, 90, p. 239 şi în „Oeuvres de Pasteur". vol. VI.

PASTEUR L. — Atenuarea virusului holerei găinilor, *C. R. Acad. Sci.*, 1880, 91, p. 673 şi în „Oeuvres de Pasteur", vol. VI.

PESTANO B. şi RUGAI E. — Contribuţii la studiul pasteurelelor, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1943, 3, p. 59.

PERRONCITO E. — Epizootie tifoidă la galinacee, *Annali R. Agric. Torino*, 1878, 21 şi *Arch. f. Wissensch. u. prakt. Tierheilk.*, 1879, 5, p. 22.

POPESCU FR. — Cercetări asupra vaccinării în Pasteurella aviară şi seroterapiei antiholerice, concomitent cu vaccinarea în diftero-epitelioma contagioasă. *Arhiva veterinară*, 1939, 31, nr. 6, p. 21.

POPOVICI I. şi COSEAC V. — Imunizarea şoarecilor albi contra pasteurelei aviare cu ajutorul vaccinului formolat, *Arh. Vet.*, 1935, 27, p. 200.

POPOVICI I. şi GOGOAŞA V. — Cercetări asupra acţiunii imunizante a culturilor de Pasteurella amestecate cu hidroxid de aluminiu la şoareci albi, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1953, 4, p. 172.

POPOVICI I. şi GOGOAŞA V. — Influenţa serului imunizant antipasteurelic asupra imunităţii active antipasteurelice, *Probleme de imunologie veterinară*, 1954, 1, p. 5.

POPOVICI I. şi GOGOAŞA V. — Inhibarea imunităţii active antipasteurelice prin serumizare, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1954, 5, p. 145.

POPOVICI I. şi GOGOAŞA V. — Cercetări asupra mecanismului acţiunii adjuvante imunogene a hidroxidului de aluminiu. Rolul focarului inflamator, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1954, 5, p. 150.

PRIESTLEY F. M. — Unele proprietăţi ale capsulei la Pasteurella septica, *Brit. J. Exper. Path.*, 1936, 17, 374.

PRITCHET J., BEAUDETTE F. şi HUGHES TH. — Epidemiologia holerei aviare, *J. Exper. Med.*, 1930, 51, p. 225, p. 239 şi p. 249.

RĂDULESCU C. — Încercări de imunizare contra holerei păsărilor, *Teză la Şcoala superioară de medicină veterinară*, Bucureşti 1894.

REILLY J. — Pasteurelozele umane, *Acquis, Méd. Récentes.*, 1954, p. 73.

REILLY J. şi TOURNIER P. — Pasteurelozele umane, *Rev. Prat.*, 1954, 4, p. 1929.

REMLINGER P. — Cromovaccinarea în pasteureloze, *Bull. Acad. Vét. France*, 1945, p. 159.

RIEGLER P. — Barbone la bivol, *Bul. Soc. de Med. Vet.*, 1903, ian. 30, p. 65.

RIEGLER P., IRIMINOIU GH. — Pasteureloza la maimuţă. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, p. 908.

ROBERTS S. J. — Studii imunologice asupra speciei Past. septica, *J. Comp. Path.*, 1947, 57, p. 261.

ROBERTS S. J. — Pasteureloza vacilor de lapte, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1953, 123, p. 204.

ROSENBUSCH C. şi MERCHANT I. — Un studiu asupra pasteurelozelor septicemiei hemoragice, *J. Bact.*, 1939, 137, p. 69.

ROTOV I. V. — Influenţa factorilor externi asupra evoluţiei şi răspîndirii pasteurelozei animalelor domestice, *Veterinaria*, 1953, nr. 2, p. 23.

ROZOWSKI T. — Date clinice, serologice şi epidemiologice la 70 cazuri de tularemie observate în Szezecin vivoodeship în perioada oct. 1952, spre sfîrşitul lui iunie 1953, *Polsk. Hyg. tek.* (în limba poloneză), 1954, 9, nr. 1, p. 219.

RUSU GH. — Încercări de vaccinaţiune cu autovaccin şi agresine din organe formolate de la animale moarte într-o epizootie de pneumonie şi pasteureloză simplă sau asociată, la cobai şi iepuri, *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1931.

SAKURAI N. şi col. — Efectul dihidrostreptomicinei asupra speciei B. tularense, *Naturwissenschaften*, 1954, 41, p. 338.

SARNOWIEC W. şi STOENESCU V. — Influenţa tuberculinei asupra culturilor de Past. avicida, *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1946, 57, p. 145.

ŞATAS I. F. şi BISTROVA N. A. — Rolul ixodidelor în menţinerea focarelor naturale de tularemie. *J. Mikrobiol., Epidemiol., Immunobiol.*, 1954, 6, p. 55.

SHENK H. — Teză, Münich, 1938.

SCHNEIDER I. — Date adiţionate asupra etiologiei pasteurelozelor cu referinţa specială la diferitele specii de gazde, *Acta Vet. Hung.*, 1948, 1, p. 31.

SCHULDNER I. — Încercări de vaccinaţiune contra holerei păsărilor prin agresine, *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1932.

SEMMER — Pesta găinilor. *D. Zeitschr. f. Tiermed.* 1878, 3.

SHIPPER G. J. — *Bul. Johns Hopkins Hosp.*, 1947, 81, p. 333.

SMITH C. H. — Pasteureloza la maimuță, *J. Am. Vet. Ass.*, 1954, 124, p. 147.

SMITH H. W. — Chimioterapia holerei experimentale a găinilor, *J. Comp. Path.*, 1955, 65, p. 309.

SMITH E. J. — Studii privind Past. septica. Incidența în nas și amigdale la cîine, *J. Comp. Path.*, 1955, 65, p. 239.

STAMATIN N., GEORGESCU V. și LUSCALOV S. — Sensibilitatea pasteurelei aviare la acțiunea bactericidă a sulfamidelor, *Ann. Inst. Pasteur*, 1945, 71, p. 250 și *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 1944, 55, nr. 4—6.

STAMATIN N., ȘERBĂNESCU C. și VLĂDEANU M. — Toxicitatea particulară a lizatelor obținute prin acțiunea penicilinei asupra culturilor tinere de Past. avicida, *C. R. Ac. Sci.*, 1948, 226, p. 2022.

STAMATIN N. și VLĂDEANU M. — Sensibilitatea Pasteurelelor la acțiunea bacteriostatică și litică a penicilinei, *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1948, 15, p. 250.

STAMATIN N., ȘERBĂNESCU C. și VLĂDEANU M. — Activitatea patogenă a toxinei pasteurelice pentru cîteva specii de animale, *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, 76, p. 84.

STAMATIN N., ȘERBĂNESCU C. și VLĂDEANU M. — Filtratele culturilor în bulion de Pasteurella de diferite origini au aceeași toxicitate ca și lizatele penicilinice ale acestor culturi, *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, 76, p. 82.

STAMATIN N., ȘERBĂNESCU C., VLĂDEANU M. și STOENESCU V. — Toxina pasteurelelor, toxicitatea lizatelor penicilinice și a filtratelor de culturi în bulion, *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală*, 1949, nr. 1, p. 3.

STAMATIN N., STOENESCU V. și ȚAGA M. — Cercetări asupra pasteurelelor de origine animală. O nouă clasificare a acestor bacterii. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală*, 1950, vol. 1, p. 3.

STAMATIN N. — Bacteriozele animale, fascicolul I, Antraxul și Pasteurelozele, *Editura de stat*, 1951.

STAMATIN N., GEORGESCU V., MIHAILOV-ȚAGA, PAPADOPOL M. și UNGUREANU C. — Mecanismul acțiunii patogene la Pasteurella animalium. Izolarea diverselor fracțiuni toxice, conținutul lor în azot și relațiile cu patogenitatea, *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală*, 1950, 2, p. 116.

STAMATIN N. — Discuții în jurul problemei privind etiologia pasteurelozelor la animale. *Probleme zootehnice și veterinare*, 1953, nr. 4, p. 68.

STAMATIN N., GOGOAȘĂ T., GOGOAȘĂ V. — Rezistența pasteurelei în diferite tipuri de sol, *Probleme de microbiologie veterinară*, 1954, nr. 3, p. 3.

STAMATIN N. și GOGOAȘĂ V. — Patogenia infecției pasteurelice la găini, *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală*, 1953, 4, p. 179.

STAMATIN N., MARGINEANU V. și KINDA C. — O enzootie de pasteureloză la cabaline, *Probleme zootehnice și veterinare*. 1955, nr. 1, p. 81.

STAMATIN N. și GOGOAȘĂ V. — Activitatea imunizantă a lizatelor penicilinice de pasteurele, *Comunicare la sesiunea de referate a Institutului de patologie și igienă animală*, ianuarie, 1957.

STAMATIN N. și GOGOAȘĂ V. — Valoarea antigenică a diverselor tulpini de pasteurelă aviară, *Comunicare la sesiunea de referate a Institutului de patologie și igienă animală*, ianuarie, 1957.

STAMP J. T. și col. — Pasteurella haemolytica în septicemia mieilor. *J. Comp. Path. a. Therap.*, 1955, 65, p. 183.

STARCOVICI G. C. — Enzootia de la Gura Bohotinului, *Bul. Soc. Med. Vet.* 1892—1893, p. 167.

STARCOVICI G. C. şi RIEGLER P. — Cercetări bacteriologice asupra unei epizootii de pneumoenterită a porcului, *Bul. Soc. Med. Vet.* 1894, p. 65.

STAUB A. — Patru ani de vaccinare contra holerei aviare, *Ann. Inst. Past.*, 1925, 39, p. 962.

SAKAMOTO K. — Un studiu asupra imunizării contra holerei aviare, *J. Jap. Soc. Veterin. Med.*, 1922, nr. 3, p. 151, *Ref. Bull. Inst. Past.*, 1923, p. 475.

SZENT IVANYI M. — Cercetări imunobiologice asupra tulpinilor de Pasteurella, *Acta Vet. Hung.*, 1951, 1, p. 261.

THAL E. — Cercetări asupra speciei Pasteurella pseudotuberculosis. 1 vol., 67 p., *Lund. Berlingska. Baktryckerist*, 1954.

TOUSSAINT H. — Asupra holerei păsărilor de curte, *Rec. Méd. Vét.*, 1879, p. 946.

TURBURE A., CONSTANTINESCU A., CONSTANTINESCU C. — Sulfaguanidina în combaterea holerei aviare, *Creşterea animalelor*, 1951, nr. 1—3, p. 79.

TREVISAN V. — *Rendiconti Reale Instituto Lombardo di Scienze e Lettere*, 1887, p. 94.

UNGUREANU C. — Apariţia variantelor de tip streptococic la Past. animalium, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1950, 2, p. 85.

UNGUREANU C. — Valoarea imunizantă a anaculturilor pasteurelice şi a serului antipasteurelic în pasteureloza experimentală a boului şi porcului, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1950, 2, p. 64.

UNGUREANU C. şi GOGOAŞĂ V. — Frecvenţa purtătorilor de Pasteurella la porci şi păsări, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1951—1952, 3, p. 94.

UNGUREANU C. şi GOGOAŞĂ V. — Valoarea imunizantă a anaculturilor pasteurelice şi a vaccinului antipasteurelic adsorbit pe hidroxid de aluminiu, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1951—1952, 3, p. 116.

URBAIN A. şi GORET P. — Infecţia şi vaccinaţia per os cu pasteurela holerei aviare, *Ann. Inst. Past.*, 1932, 48, p. 470.

URBAIN A., NOUVEL J. şi BULLEER P. — Pseudotuberculoza leului, *Bul. Acad. Vet.*, 1944, 17, p. 333.

VASSAL — Încercări de vaccinare cu toxine contra holerei aviare, *C. R. Soc. Biol.*, 1907, p. 431.

VIŞELEVSKI N. C. şi MAZEL E. — Ceastnaia Epizootologhia, Moscova, 1936.

VLASOVA E. V. — Acţiunea streptomicinei în tularemia experimentală a şoarecilor albi. Acţiunea profilactică. *Jur. Mikrobiologhii, Epidemiologhii i Imunobiologhii*, 1953, 6, p. 31.

VAYSSE J. şi ZOTTNER G. — Pasteurelozele în Maroc. Metode de imunizare. *Off. Int. Epizoot.*, 1952, 38, p. 219.

VITTOZ R. — Importanţa în Asia a factorilor geografici şi climatici în epizootologia şi profilaxia pasteurelozelor, *Off. Int. Epizoot.*, 1952, 38, p. 240.

VOGES O. — Studii critice şi cercetări experimentale asupra bacteriilor septicemiei hemoragice şi asupra bolilor pe care le provoacă. *Z. f. Hyg.*, 1896, 23, p. 159.

VOGES O. — Diferenţierea prin reacţii serologice specifice a microorganismelor din grupa septicemiilor hemoragice. *Zbl. f. Bakt.*, I. O. 1902, vol. 31, p. 645.

WEIL E. — Cercetări asupra infecţiei şi imunităţii în holera aviară, *Arch. f. Hyg.*, 1905, 52, p 411.

WEIL E. — Critica cercetărilor de imunizare contra holerei găinilor cu extracte bacteriene. *Z. f. Hyg. und Infektionskr.*, 1907, 56, p. 509.

WEIL E. şi NAKAYAMA — Imunitatea antiagresinică la porci faţă de pasteureloza porcilor (Schweineseuche). *Zbl. f. Bakt.*, 1906, 41, p. 121.

WASSERMANN A. şi CITRON J. — *Deut. Med. Wschr.*, 1905, p. 1101.

WASSERMANN şi OSTERTAG R. — Asupra imunizării contra pasteurelozei porcului, *Monatsh. f. prakt. Tierheilkunde;* 1902, 13.

WASSERMANN A. şi OSTERTAG R. — Asupra unui ser polivalent cu consideraţii particulare privind imunitatea faţă de agenţii pasteurelozei porcului, *Z. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1904, 47, p. 416.

WEBSTER L. T. şi BURN C. G. — *J. Exp. Med.*, 1926, 44, p. 343 şi p. 359.

WILLEMS R. — *Tularemia. Off. Int. des Epizoot.*, 1951, 36, p. 140.

WROBLEWSKI W. şi SWIBA S. — Imunizarea contra holerei păsărilor cu bacteriile septicemiei iepurilor. *Rozpraiwy Biologiezne*, 1928, 6, fasc. 3—4, p. 10.

Genul *Brucella* Meyer şi Shaw, 1920

Genul *Brucella*, cuprinde trei specii patogene pentru om şi animale. Prima specie, cunoscută sub sumele de *Br. melitensis,* a fost descoperită în 1887 de David Bruce, care, în colaborare cu medicul maltez Garuana Scicluna, pune în evidenţă bacterii mici, rotunde, în secţiunile din splinele a cinci oameni morţi în urma unei boli cu caracter infecţios şi care era cunoscută de mult timp în insulă, sub diverse nume: febra de Malta, febra intermitentă, febra tifomalarică, pseudotifos etc.

În 1888, Bruce izolează de la şase bolnavi care prezentau semnele aşa-numitei febre de Malta germeni de aceeaşi formă ca cei găsiţi în secţiunile din splină. El îi obţine în culturi pure şi provoacă cu aceste culturi o infecţie mortală la maimuţă. Germenul izolat este numit inţial, de autor, *Micrococcus melitensis (melitensis* vine de la *Melita,* nume dat de localnici insulei Malta).

Ceva mai tîrziu, în 1895, Bang descoperă a doua specie din această grupă bacteriană. Autorul observă, în învelitorile şi avortonii unor vaci, la care avortul avea caracter infecţios, prezenţa unor germeni mici, rotunzi, cocoizi şi Gram negativi. Împreună cu Stribold, Bang demonstrează în 1896 legătura dintre prezenţa acestor germeni în fetuşi şi învelitori şi producerea avortului.

Micrococcus melitensis şi agentul avortului infecţios al vacilor, deşi, aşa cum s-a observat mai tîrziu, se apropie unul de altul pînă la identificare, au fost studiaţi pînă în 1918 ca două specii cu totul aparte. La această dată, Alice Evans, studiind paralel tulpini izolate de la oameni bolnavi de febră de Malta şi tulpini izolate din cazurile de avort contagios la vaci, a remarcat însă marea asemănare dintre cei doi germeni; cercetările serologice nu fac decît să confirme aceste apropieri. Mai mult încă, tulpinile nu se disting net nici din punct de vedere al patogenităţii lor pentru om sau animale. În urma acestor cercetări s-a propus ca cele două bacterii să fie incluse într-un singur gen, care a fost numit genul *Brucella,* după numele primului cercetător al acestor germeni (Bruce).

În 1929 s-a integrat în genul *Brucella* încă o specie, şi anume, *Br. suis,* descrisă încă din 1914, de Traum, ca agentul avortului infecţios la scroafe. Huddleson (1929) a fixat caracterele acestui tip în raport cu *Br. abortus* şi *Br. melitensis.*

Legăturile dintre cele trei specii, *Br. melitensis, Br. abortus, Br. suis,* au fost apoi studiate în amănunt şi de extrem de numeroşi microbiologi, ajungîndu-se la concluzia că ele constituie mai curînd trei tipuri sau trei variante ale unei singure specii, decît trei specii distincte. Micile diferenţe ce se constată între ele ar fi rezultatul efortului de adaptare a germenului la organismul diverselor specii animale şi nu ar putea constitui criterii suficiente pentru constituirea lor în specii. Cu toate acestea, majoritatea autorilor le consideră specii, şi aceasta mai mult pentru importanţa lor în patologie decît pentru diferenţele obiective ce există între ele.

Asupra originii celor trei specii de *Brucella* s-au formulat diverse ipoteze. Astfel, Huddleson admite că toate derivă dintr-o specie unică, iar Zdrodovski, sprijinind această teză, afirmă că chiar astăzi se pot obţine treceri de la o specie la alta. Nyredi (1954) exprimă o convingere asemănătoare. El socoteşte că tipul iniţial a fost reprezentat prin *Br. melitensis* şi că celelalte două specii sînt forme de adaptare. Kalina merge încă mai departe şi afirmă că potenţialul de variabilitate la germenii din genul *Brucella* este aşa de mare, incît în fiecare focar brucelos există un tip propriu, diferit de cele din alte focare. Chiar în cadrul speciei *Br. suis* se recunosc două variante bine distincte şi anume: o variantă americană patogenă pentru porc şi transmisibilă la om şi bovine (produce mamite la vaci) şi un tip danez sau european, nepatogen de regulă pentru om şi netransmisibil la bovine. La fel, în cadrul speciei *Br. abortus* s-a descris o variantă patogenă pentru bovine şi om şi alta patogenă numai pentru bovine. Aceste date arată că germenii din genul *Brucella* au o însemnată capacitate de variaţie, ei putîndu-se adapta, din această cauză, cu uşurinţă, la cele mai diverse medii biologice.

Infecţiile produse de germenii din genul *Brucella* sînt denumite cu termenul generic de *Bruceloze (Brucellosis).* Prin pagubele economice pe care le produc, cît şi prin transmisibilitatea lor de la animale la om, brucelozele prezintă un caracter a cărui gravitate a fost semnalată şi luată în consideraţie în numeroase congrese internaţionale.

Bruceloza umană pare a fi o boală foarte veche, în special în ţările din jurul Mării Mediterane, dar ea nu a putut fi cu precizie identificată, ca entitate morbidă separată, decît după descoperirea agentului etiologic. Înainte de epoca bacteriologică au apărut însă descrieri ale unei boli umane care se aseamănă foarte mult cu ceea ce numim astăzi bruceloză. Se admite că Hyppokrates a descris o asemenea infecţie care nu pare a fi alta decît febra de Malta. Studiul clinic al bolii la om începe în secolul al XIX-lea. Este desăvîrşit prin descoperirea agentului etiologic de către Bruce. În ceea ce priveşte avortul epizootic la bovine, pare să fi fost semnalat, în unele ţări nordice ca Anglia, Danemarca, încă în cursul secolului al XVIII-lea.

PROPRIETĂȚILE MORFOLOGICE, CULTURALE ȘI BIOLOGICE ALE BRUCELELOR

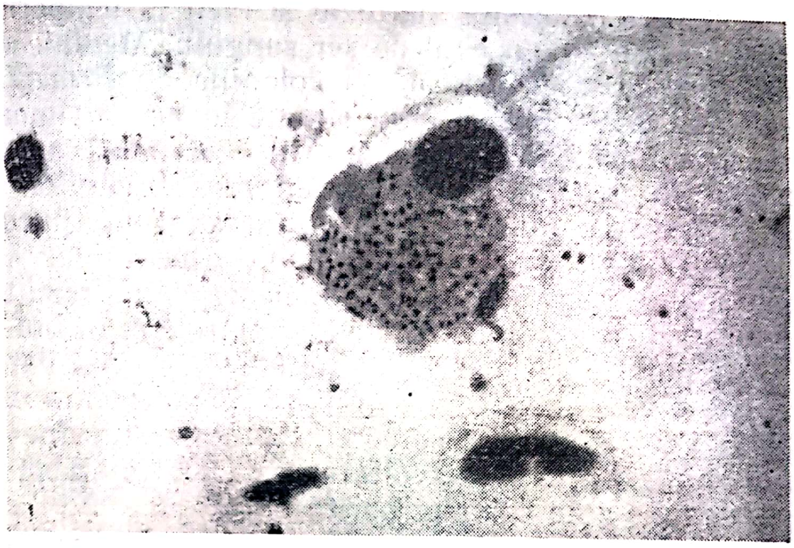


Fig. 37 — Brucele în citoplasma unei celule din conținutul stomacal al unui avorton
Colorație după Hansen (Schindler)

Caracterele morfologice. Cele trei specii nu pot fi deosebite prin examenul caracterelor morfologice. În culturi ca și în organe, germenii prezintă un accentuat polimorfism. Celulele bacteriene pot fi rotunde sau alungite. Diametrul formelor cocoide este de 0,4—0,6 microni, iar lungimea formelor bacilare variază de la 1 la 3 microni. Lățimea, la formele bacilare 0,3 microni.

În culturi vechi, pe medii lichide, se pot întîlni lanțuri scurte, constituite din 4—5 elemente.

Germenii sînt imobili, nu formează spori și nici capsulă. Gram negativi ; se colorează cu toate culorile bazice de anilină. Unele elemente bacilare pot prezenta o colorație bipolară.

Metode de colorație diferențială. *Metoda Koslovski.* Frotiul fixat se acoperă cu soluție 2% de safranină și apoi se încălzește, pînă la apariția vaporilor de apă ; se menține 1 minut la această temperatură ; se spală cu apă și se recolorează cu o soluție 1% verde de malachit sau verde brillant. Se spală cu apă și se examinează. Brucelele se colorează în roz, iar celelalte bacterii în verde.

Metoda Köster (1930) Frotiul fixat se acoperă cu o soluție alcalină de safranină (1,5 ml dintr-o soluție n/1 de KOH, plus cinci picături dintr-o soluție apoasă 3% de safranină) ; lama se încălzește pînă la apariția vaporilor și, după 1—5 minute, se tratează 15 secunde cu o soluție 0,05% de acid sulfuric ; se spală apoi bine cu apă și se recolorează 1—2 minute cu o soluție apoasă de albastru de metilen ; brucelele sînt colorate în roșu, alte bacterii și fondul în albastru.

Medii pentru cultivare și izolare. Bang și Stribold au izolat primele tulpini de *Br. abortus* pe un mediu avînd următoarea compoziție :

bulion	
agar fibre	0,75%
gelatină	5%

La acest amestec sterilizat şi răcit la temperatura de 45—50°C autorii adăugau un volum egal de ser sanguin. Mediul, după însămînţare, se solidifică în poziţie verticală şi coloniile de *Brucella* apăreau după o incubaţie de 3—10 zile şi erau situate în profunzimea mediului, la o distanţă de 1—1,5 cm de suprafaţă. Alţi cercetători au folosit apoi diferite alte medii. În general, pentru întreţinerea tulpinilor se folosesc medii solide, şi anume agar nutritiv la care se adaugă fie glucoză 2%, fie glicerină 1%, fie şi glucoză şi glicerină. Mediile glucozate 2% şi glicerinate 1% dau cele mai bune rezultate. De asemenea, bune rezultate se obţin şi pe agarul cu extract de cartofi. Brucelele se cultivă şi în bulion simplu sau glicerinat.

Tulpinile de laborator, indiferent de tipul căreia aparţin, se cultivă pe aceste diverse medii, în aerobioză. Temperatura optimă de creştere este de 37°C. La temperatura camerei, cultura nu devine vizibilă decît după cîteva săptămîni. La 42°C dezvoltarea este foarte slabă, iar la 45°C multiplicarea germenului este complet oprită.

Mediile uşor alcaline, pH = 7,4, sînt, după unii autori, cele mai favorabile, după alţii cele uşor acide, pH = 6,6, convin cel mai mult germenului, ceea ce pare a corespunde mai mult realităţii. Dezvoltarea este însă posibilă în limite largi de pH şi anume de la pH = 6,2 la pH = 7,8 sau chiar 8.

Din punct de vedere al toleranţei pentru oxigen se pot constata unele diferenţe între *Br. abortus*, pe de o parte, *Br. melitensis* şi *Br. suis*, pe de altă parte. Tulpinile de *Br. melitensis* şi *Br. suis* se dezvoltă, chiar cînd sînt însămînţate direct din organele animalelor spontan infectate, într-o atmosferă normală, în medii lichide sau pe suprafaţa mediilor solide. Tulpinile de *Br. abortus*, în marea lor majoritate, nu se dezvoltă, în aceste condiţii, cînd sînt însămînţate direct din organele animalelor infectate spontan. Ele necesită, pentru a se multiplica pe medii obişnuite, o atmosferă îmbogăţită, 5—10%, în CO_2. Nevoia de CO_2 nu are nici o legătură cu anaerobioza, întrucît nu concentraţia oxigenului împiedică dezvoltarea, ci lipsa unei concentraţii suficiente de CO_2. De altfel toate cele trei specii de brucele, sînt aerobe şi se dezvoltă în prezenţa oxigenului.

Îmbogăţirea atmosferei în CO_2 se poate realiza în diferite chipuri. Cea mai bună metodă constă din înlocuirea unei părţi din atmosfera unui anaerostat cu bioxid de carbon. În absenţa anaerostatului se poate folosi un vas ermetic închis, în care, pe lîngă tuburile însămînţate cu *Brucella*, se pun şi tuburi cu agar, însămînţate cu diverşi aerobi. Rezultate bune se obţin de asemenea, introducînd în tuburi, după însămînţare, gaz aerian.

Atunci cînd materialul de însămînţat conţine o floră mixtă, se folosesc, pentru izolare, medii care conţin substanţe bacteriostatice pentru flora secundară. Ca substanţe bacteriostatice se pot întrebuinţa cristalul violet în diluţie de 1/700 000 (soluţie finală în mediu) sau albastru de Victoria 4 R în diluţie de 1/20 000.

Kuzdas şi Morse (1953) folosesc, pentru izolarea brucelelor din materialele infectate, aşa-numitul mediu W, care conţine pe lîngă cristal violet şi o serie de antibiotice, aşa cum se vede în continuare:

agar Albimi	1 000 ml
sulfat de polimixină B	6 000 unităţi
actidionă	100 mg
bacitracină	25 000 unităţi
citrulină	15 000 unităţi
cristal violet	1,4 mg

Cristalul violet se adaugă în mediu înainte de sterilizare, iar antibioticele după această operaţie. Renoux (1954) obţine rezultate încă şi mai bune înlocuind cristalul (violet de metil) prin violetul de etil. Un asemenea mediu care conţine violet de etil în concentraţie de 1/800 000 a permis autorului să izoleze brucele chiar din materiile fecale şi secreţiile vaginale de la oi şi capre, produse cu o floră secundară foarte bogată.

Caractere culturale. *In bulion*, brucela produce, în primele zile după însămînţare, o tulburare uniformă. Cu timpul, germenii sedimentează şi lichidul se clarifică. Tulpinile de *Br. suis*, însămînţate în balonaşe care conţin 200—250 ml de bulion, constituie o cultură abundentă, cu peliculă la suprafaţă şi depozit bogat. În aceleaşi condiţii, tulpinile de *Br. abortus* se dezvoltă mult mai parcimonios ; ele formează, la suprafaţă, un inel lipit de pereţii vasului, iar depozitul este puţin abundent.

Pe agar, coloniile izolate sînt rotunde, opace, lucitoare, asemănătoare, într-o oarecare măsură, celor formate din germenii Gram negativi din grupa bacteriilor intestinale. În raport cu acestea din urmă, coloniile produse de *Brucella* sînt mai bombate, de dimensiuni ceva mai mici, mai groase. Însămînţările abundente duc la constituirea unui strat microbian gros, opac, de culoare albă-gri. Pe agarul glucozat şi glicerinat germenii se dezvoltă mai repede şi mai abundent ca pe agarul lipsit de aceste substanţe hidrocarbonate.

În gelatină, prin înţepătură, la temperatura de 20°C, cultura nu devine bine vizibilă decît după 2—3 săptămîni. În gelatina glucozată, la temperatura de 37°C, se obţine o cultură abundentă şi răspîndită în tot mediul, după o incubaţie de 2—3 zile. Culturile în gelatină glucozată rămîn mult timp viabile şi transplantabile.

Pe cartoful glicerinat, cultura devine vizibilă după 24—48 de ore la 37°C şi ea se colorează în brun-ciocolatiu în zilele următoare.

Tulpinile de *Br. abortus* cresc în general, mai bine pe cartof glicerinat ca cele de *Br. melitensis* ; acest caracter este însă inconstant şi nu poate servi la diferenţierea celor două specii.

Diferenţierea speciilor din genul Brucella

Diferenţierea speciilor din genul *Brucella* este o problemă foarte dificilă şi a cărei rezolvare a preocupat pe numeroşi cercetători. Rezultatul acestor preocupări îl constituie numeroasele teste care au fost propuse în acest scop.

Huddleson recomandă, pentru diferenţierea celor trei specii, trei probe, şi anume :

1. crombacteriostaza, adică cercetarea efectului bacteriostatic al diverselor substanţe colorante ;

2. nevoia de CO_2 în momentul izolării ;
3. producția de SH_2.

Aceste teste, dată fiind însemnata capacitate de variație a brucelelor, s-au arătat insuficiente și lor li s-au adăugat, de către diverși cercetători, altele. Cruickshank (1954), care a examinat 800 de tulpini din genul *Brucella,* afirmă, de exemplu, că se obțin rezultate satisfăcătoare dacă la cele trei teste ale lui Huddleson se adaugă proba aglutinării cu seruri specifice. Autorul remarcă însă că, în general, diferențele biologice, biochimice și serologice dintre cele trei specii sînt mai curînd de ordin cantitativ decît calitativ. Astfel, atît *Br. abortus,* cît și *Br. suis* produc SH_2, dar prima produce mai repede decît cea din urmă, și cea din urmă mai mult ca cea dintîi. Tudoriu și Ionică (1955) au cercetat, în scopul tipizării, 74 de tulpini izolate în R.P.R., constatînd că cele trei teste Huddleson, la care adaugă testul cu bromtimol (Nyiredi și Szabó, 1952), inhibiția prin ovalbumină (Bruschettini) și testul ureazic, le-au permis să diferențieze satisfăcător tulpinile cercetate.

Rezultatele ce se obțin prin diversele teste au, în general, un grad însemnat de aproximație.

Diferențierea prin teste de cromobacteriostază. Huddleson a remarcat, în 1931, că pe medii solide, care conțin diverse substanțe colorante, cele trei specii de *Brucella* nu se comportă la fel, și anume: unele se dezvoltă, iar altele sînt inhibate. În urma acestor constatări, el introduce cromobacteriostaza ca metodă de diferențiere a speciilor. Ca substanțe colorante el folosește tionina în concentrație de 1/30 000, pironina în concentrație de 1/100 000 și fucsina bazică în concentrație de 1/25 000 (concentrație finală în mediu). Substanțele colorante, înainte de a fi folosite, trebuie verificate în ceea ce privește capacitatea lor bacteriostatică, față de tulpini tip de colecție, întrucît se observă mari variații de la o fabricație la alta.

Mediu de cultură. Huddleson folosește, pentru proba de cromobacteriostază, *ficat-agarul* (A F), care are următoarea compoziție:

ClNa	5 g
peptonă	10 g
agar fibre	20 g
apă	500 g
macerat de ficat	500 g

Prepararea maceratului de ficat. Maceratul de ficat se prepară astfel: organul proaspăt se toacă și pentru fiecare 100 g de ficat se adaugă 100 ml de apă. Amestecul se fierbe 1 oră și apoi se autoclavează la 120°C timp de 15—20 de minute; totul se trece prin tifon; se așteaptă depozitarea particulelor mai mari și apoi lichidul se separă de depozit prin decantare, el constituind maceratul de ficat.

Prepararea mediului. În 500 g de apă se topesc la autoclav, 20 g de agar, 10 g de peptonă și 5 g de sare; se amestecă totul cu 500 g de macerat de ficat; pH-ul este ajustat la 7; mediul se încălzește la 55—60°C și se adaugă cîte un albuș de ou pentru fiecare litru de mediu; se autoclavează la 120°C timp de 30 de minute, se filtrează prin vată de sticlă și se sterilizează; pH-ul final = 6,6. Acest mediu poate avea și alte întrebuințări.

Meyer şi Zobbel (1952) înlocuiesc în testul de cromobacteriostază mediul ficat-agar cu un agar nutritiv moale, preparat cu extract de carne, şi avînd un pH = 6,8.

Ilian (1953) execută cromobacteriostaza după o tehnică ce se inspiră din metodele folosite pentru dozarea antibioticelor. Autoarea îmbibă rondele de hîrtie cu soluţiile coloranţilor respectivi şi apoi pune aceste rondele pe suprafaţa plăcilor de agar, după însămînţarea lor cu diverse tipuri de *Brucella*. Metoda este simplă şi a dat autoarei rezultate bune. Diluţiile cu care se îmbibă rondelele şi care dau rezultate scontate, sînt: pironina 1/20 000, tionina 1/1 000, fucsina bazică 1/1 000, violet de genţiană 1/5 000, verde brillant 1/100 000.

Rezultatele care se obţin prin proba de cromobacteriostază sînt în general următoarele:

Br. melitensis, indiferent de tehnica folosită, nu este inhibată de nici una din cele trei substanţe, recomandate de Huddleson. *Br. abortus* este adeseori inhibată de tionină, dar se dezvoltă abundent în mediile cu pironină. În ceea ce priveşte fucsina, Huddleson constată că nu toate tulpinile de *Br. abortus* se comportă la fel; astfel, unele reduc şi altele nu reduc această substanţă; tulpinile care reduc fucsina şi decolorează mediul pot proveni fie de la om, fie de la bovine, dar cele care nu reduc fucsina se izolează numai de la bovine şi deci nu par a fi patogene pentru om. Excepţii de la acest mod de comportare au fost adeseori semnalate. Astfel, Cruickshank (1954) observă că din 738 de tulpini izolate din laptele de vacă, 680 aparţineau speciei *Br. abortus,* după o serie de proprietăţi; 62 din aceste tulpini, deşi au fost clasate ca *Br. abortus,* erau însă inhibate de toţi coloranţii folosiţi, comportîndu-se deci atipic din acest punct de vedere. Tulpinile de *Br. suis* nu sînt inhibate de pironină, dar nu se dezvoltă în medii cu fucsină şi tionină.

Teste de cromobacteriostază executată cu alte substanţe decît cele folosite de Huddleson. *Violetul de genţiana,* în soluţie de 1/50 000 — 1/500 000, inhibă, după unii autori (Jeney şi col. 1955), complet sau aproape complet dezvoltarea culturilor de *Br. abortus* şi *Br. suis* şi nu are decît o acţiune redusă asupra tulpinilor de *Br. melitensis.*

Violetul de metil, după unii autori, inhibă în primele trei zile dezvoltarea speciei *Br. suis,* dar nu are o acţiune asemănătoare asupra speciilor *Br. abortus* sau *Br. melitensis.*

Albastrul de bromtimol, după Nyieredy şi Szabó (1952), în concentraţie de 0,015%, este inhibitor pentru *Br. suis* dar nu pentru *Br. abortus. Ionică* (1954), folosind agarul simplu cu albastrul de bromtimol a constatat că toate cele 20 de tulpini de origine porcină pe care le-a examinat nu s-au dezvoltat, în timp ce toate cele 12 tulpini bovine au dat culturi vizibile pe acest mediu, modificîndu-i, în acelaşi timp, culoarea din uşor verzuie în albastru-intens.

Verdele brillant, în tehnica Ilian, este inhibitor în diluţie de 1/100 000 pentru *Br. abortus* şi *Br. melitensis,* dar nu pentru *Br. suis.*

Valoarea de diagnostic a testului de cromobacteriostază depinde într-o mare măsură, de originea substanţei folosite, constatîndu-se în această privinţă, diferenţe importante de la un colorant la altul, în funcţie de locul unde a fost fabricat.

Tabelul 28

Acţiunea diverselor substanţe colorante faţă de cele trei specii ale genului Brucella

	Albastru de brom-timol 0,015%	Tionină 1/30 000	Pironină 1/100 000 sau chiar 1/50 000	Fucsină 1/25 000 sau 1/50 000	Violet de genţiana 1/50 000 — 1/100 000	Violet de metil
Br. melitensis ..	±	+	+	+	+	+
Br. abortus	+	+ — (+)	+	+	— sau +	+
Br. suis	—	+	— (În primele 5 zile)	—	— sau +	Dezvoltarea tardivă, după 3 zile

Diferenţierea prin testul producţiei de hidrogen sulfurat. Huddleson afirmă că producţia de SH_2 poate servi la diferenţierea speciilor de *Brucella*. Într-adevăr, se constată că *Br. melitensis* nu produce SH_2, în timp ce *Br. abortus* şi *Br. suis* produc. Aceste din urmă două specii se deosebesc însă între ele prin viteza de producţie a SH_2. În culturile de *Br. abortus*, SH_2 apare în primele 3 zile după însămînţare, iar în cele de *Br. suis* în primele 7 zile. Tudoriu şi Ionică (1955) constată în această privinţă, că toate tulpinile examinate şi izolate de la taurine au produs SH_2 în primele 24 de ore de la însămînţare; excepţie de la această regulă au făcut două tulpini. Tulpinile izolate de la suine încep să producă SH_2 după 2 zile de la însămînţare; cantitativ, acestea din urmă produc însă mai mult SH_2 decît tulpinile izolate de la taurine. Producţia de SH_2 este condiţionată de bogăţia mediului în substanţe care conţin sulf. Mediul ficat-agar este bogat în asemenea substanţe şi el se poate folosi pentru a determina această proprietate. Tulpinile de *Br. suis* tipul european, spre deosebire de tipul american, produc SH_2 numai în medii cu ficat.

Diferenţierea prin testul dezvoltării pe medii cu ou. Tulpinile de *Br. melitensis* se dezvoltă în mod constant pe mediul cu ou, recomandat de Petragnani pentru cultivarea bacilului tuberculozei. Dimpotrivă, *Br. abortus* şi *Br. suis* sînt inhibate în totalitate sau în parte. *Br. suis* s-ar dezvolta pe mediul lui Petragnani cu verde malachit, dar nu pe cei lipsit de această substanţă.

Tulpinile de *melitensis*, în urma multiplicării lor, schimbă culoarea mediului cu verde malachit. Acest viraj nu se produce în cazul însămînţării tipului *abortus* sau tipului *suis*; totuşi, unele tulpini de *Br. abortus* produc acest viraj.

Rezultate similare se obţin şi cu mediul Bruschetini, care este un agar-ficat sau agar glucozat 1% sau agar glicerinat 2%, ce conţine pentru 5 ml de mediu 1 ml de amestec, în părţi egale, de lapte steril şi ovalbumină sterilă. Pe un asemenea mediu, *Br. melitensis* se dezvoltă normal, *Br. suis* slab şi tardiv sau de loc şi *Br. abortus* de loc. Formele R sau RS de *Br. abortus* se dezvoltă totuşi pe acest mediu ; dezvoltarea este însă slabă şi tardivă (Tudoriu şi Ionică, 1955).

Diferenţierea prin testul cu dietil-ditiocarbamat de sodiu. Această substanţă, în soluţie 1% în apă distilată, este după Renoux (1952), inhibitoare, pentru *Br. suis*, mai puţin inhibitoare pentru *Br. abortus* şi de loc pentru *Br. melitensis*. Activitatea inhibitoare se pune în evidenţă astfel: rondele de hîrtie de filtru, cu diametrul de 1—2 cm, se îmbibă cu soluţia proaspăt preparată şi apoi se pun pe suprafaţa agarului (placă Petro) însămînţat cu tulpina de cercetat ; după 24—48 de ore de termostat se citesc rezultatele, notîndu-se lărgimea zonei de inhibiţie din jurul rondelei de hîrtie de filtru. Cercetările se fac cu martori, reprezentaţi prin tulpini cunoscute ca apartenenţă de specie.

Diferenţierea prin testul fermentării ureei. Bauer (1949), Renoux şi colaboratorii (1951) au arătat că brucelele (toate speciile) hidrolizează ureea $\left(CO_2 < {NH_2 \atop NH_2} \right)$, luînd naştere două molecule de amoniac şi o moleculă de bioxid de carbon. Fermentarea ureii poate servi atît la deosebirea brucelelor de alţi germeni, cît şi pentru a diferenţia speciile de *Brucella* între ele. După autorii citaţi, *Br. suis* produce hidroliza rapidă a ureii (5 secunde pînă la 5 minute), iar *Br. abortus* într-un timp mult mai lung. *Br. melitensis* se situează, în ceea ce priveşte viteza hidrolizei, între *Br. suis* şi *Br. abortus*. Proba activităţii ureazei brucelice se face pe mediul Fergusson-Hook (1934), care se compune din :

uree	2 g
fosfat monopotasic	0,1 g
fosfat bipotasic	0,1 g
clorură de sodiu	0,5 g
alcool etilic	1 g
apă distilată cu 0,2% roşu de fenol (indicator)	100 g

Soluţia se prepară înainte de întrebuinţare şi trebuie să aibă pH = 7. Pentru determinarea activităţii ureazice se adaugă, la 1 ml de mediu, 0,1 ml dintr-o suspensie densă de germeni (5% apă fiziologică pentru o cultură pe agar înclinat) şi apoi se urmăreşte modificarea culorii mediului. Reacţia se consideră pozitivă în momentul în care mediul, iniţial, galben, se colorează în roşu-vişiniu, ca o consecinţă a alcalinizării sale prin amoniacul rezultat din descompunerea ureii.

Diferenţierea prin metode serologice. Serologic, cele trei specii nu se pot distinge între ele decît prin folosirea serurilor monospecifice, deoarece ele au în structura lor antigeni comuni şi antigeni proprii, particulari fiecărei specii. Cercetările lui Wilson şi Milles (1932) au arătat în această privinţă, că brucelele conţin doi antigeni A *(abortus)* şi M *(melitensis)*, care sînt însă inegal repartizaţi la cele trei specii. Astfel, *Br. abortus* conţine 95% antigen A şi 5% antigen M, *Br. melitensis*, din contra, conţine 95% antigen M şi numai 5% antigen A, iar *Br. suis* conţine 60%

antigen A şi 40% antigen M. Antigenii A şi M sînt prezenţi numai la formele S şi numai aceste forme pot fi diferenţiate prin mijloace serologice, formele R ale tuturor tipurilor avînd aceeaşi structură antigenică. Plecîndu-se de la aceste date, s-au putut obţine prin absorbţie seruri monospecifice, cu ajutorul cărora se pot distinge speciile între ele. În general, un ser specific antiabortus va aglutina numai tulpinile de *Br. abortus*, iar unul antimelitensis pe cele de *Br. melitensis*. Cruickshank (1954) remarcă însă unele abateri de la această regulă. Astfel, o serie de tulpini care se comportau biochimic ca *Br. abortus* erau aglutinate de serul antimelitensis monospecific. Asemenea tulpini, cu comportare atipică, au fost găsite în sudul Italiei şi s-au izolat, în general, de la om. Tot cu privire la structura antigenică, Drojevkina (1954) a arătat că unele tulpini de *Brucella* pot conţine antigenul Vi.

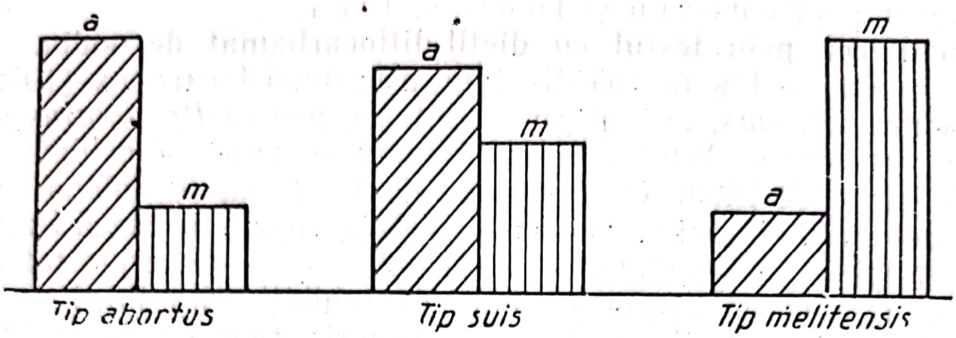


Fig. 38 — Schema structurii antigenice (după Wilson)
a — antigen abortus; *m* — antigen melitensis

Valoarea diverselor teste de diferenţiere. Speciile genului *Brucella* pot fi deosebite, cu oarecare aproximaţie, între ele, prin metode culturale şi serologice. Cromobacteriostaza, asociată cu celelalte mijloace, permite această deosebire. In mod practic, în ţara noastră, unde nu există *Br. melitensis*, o tulpină care în momentul izolării creşte în atmosferă normală şi nu dă culturi pe agar simplu cu albastru de bromtimol aparţine speciei *Br. suis*, în timp ce o tulpină care, în momentul izolării, nu se dezvoltă decît într-o atmosferă îmbogăţită în CO_2 şi creşte pe agarul simplu cu albastru de bromtimol aparţine speciei *Br. abortus*. Trebuie adăugat că unele cercetări par a demonstra că însuşirile speciilor nu sînt fixe şi că deosebirile dintre ele se pot şterge în anumite condiţii de mediu. Nyredy (1953) constată, în această privinţă, că *Br. suis* se apropie şi se identifică cu *Br. abortus* prin cultivare pe medii cu bilă de bou. În aceeaşi ordine de idei mai trebuie spus că formele R ale celor trei specii nu se pot, în general, distinge între ele, şi că probele de diferenţiere ale speciilor nu se pot aplica decît formelor S. Înainte de a se tipiza o tulpină, trebuie deci să se precizeze faza căreia îi aparţine.

Pe lîngă testele de diferenţiere folosite în laborator, trebuie să se ţină seama, atunci cînd se tipizează o tulpină, şi de:

1. specia animală de la care provine tulpina;

2. locul (regiunea geografică) unde s-a produs infecţia din care s-a izolat tulpina.

Aceste date ne permit, adeseori ele singure, să apreciem, cu mare aproximaţie, este drept, specia căreia aparţine o tulpină. Astfel, oile sînt receptive faţă de *Br. melitensis* şi rezistente, cel puţin în condiţii naturale, faţă de *Br. abortus* sau *Br. suis*. Aceasta reiese, de exemplu, şi din constatarea că în Romînia bruceloza este inexistentă la ovine, deşi infecţia cu *Br. abortus* şi *Br. suis*, respectiv la bovine şi porcine, este destul de răspîndită. Neavînd în ţară specia *Br. melitensis*, nu avem nici bruceloză la ovine sau caprine. Atunci cînd se izolează o tulpină de la oaie este foarte probabil deci că ea aparţine speciei *Br. melitensis*. Ionică (1955) a identificat un caz sporadic de bruceloză la oaie în Romînia şi de la el a izolat, într-adevăr, *Br. melitensis*. De asemenea, în Romînia, cvasitotalitatea tulpinilor izolate de la bovine aparţine speciei *Br. abortus*, iar cele de la suine, speciei *Br. suis*. Nu s-au observat, aşa cum a putut să constate Tudoriu (1953), infecţii la bovine cu *Br. suis* sau la porcine cu *Br. abortus*. Cele două specii bacteriene au deci, şi în acest caz, o mare specificitate de gazdă. Omul se comportă însă deosebit, el putîndu-se infecta cu toate cele trei specii.

În ceea ce priveşte regiunea terestră în care s-a produs infecţia, ea este de asemenea de o mare importanţă, deoarece speciile de *Brucella* au, într-o oarecare măsură, arii geografice distincte. *Br. melitensis*, de exemplu, se găseşte la populaţia animală şi umană a ţărilor mediteraneene sau care se găsesc pe aceleaşi paralele cu aceste ţări. *Br. abortus* şi *Br. suis* sînt cantonate, de regulă, în ţările din regiunile temperate, la nord de paralela 45. Intrepătrunderi între aceste zone au fost semnalate, ele neavînd însă, pînă în prezent, un caracter general. Astfel Juskoveţ (1955) observă, în această privinţă, că în ultimul timp s-au semnalat infecţii cu *Br. melitensis* în regiunile nordice ale U.R.S.S., ca republicile Bielorusă, Letonă, regiunile Gorki şi Arhangelsk. Enzootiile provocate de această specie de *Brucella* în aceste regiuni, nu au avut însă caracterul grav a celor ce se întîlnesc în zonele sudice şi, în consecinţă, ele au putut fi repede lichidate. Deocamdată se poate spune că speciile de *Brucella* rămîn cantonate în zonele lor de origine. O generalizare, în viitor, nu ar putea fi însă exclusă.

Proprietăţi fermentative

Germenii din genul *Brucella* sînt inactivi faţă de majoritatea substanţelor ternare: zaharuri şi polialcooli. Arabinoza şi xiloza ar fi, după unii autori (Silberstein, 1932), uşor fermentate, după o incubaţie de 4—8 zile. Numeroase cercetări au dovedit de asemeni că *Br. melitensis* şi *Br. suis* fermentează în 7 zile glucoza; *Br. abortus* este însă complet inactivă faţă de acest zahar. Fermentarea glucozei este însă mai energică în medii (apă peptonată) cu o concentraţie mică de peptonă (0,2%), decît în cele cu o concentraţie mare (0,5%). În aceste din urmă condiţii, numai *Br. melitensis* atacă glucoza. Fermentarea glucozei nu poate fi pusă în evidenţă prin reacţii de culoare — prin indicatorii curent folosiţi pentru zonele acide de pH

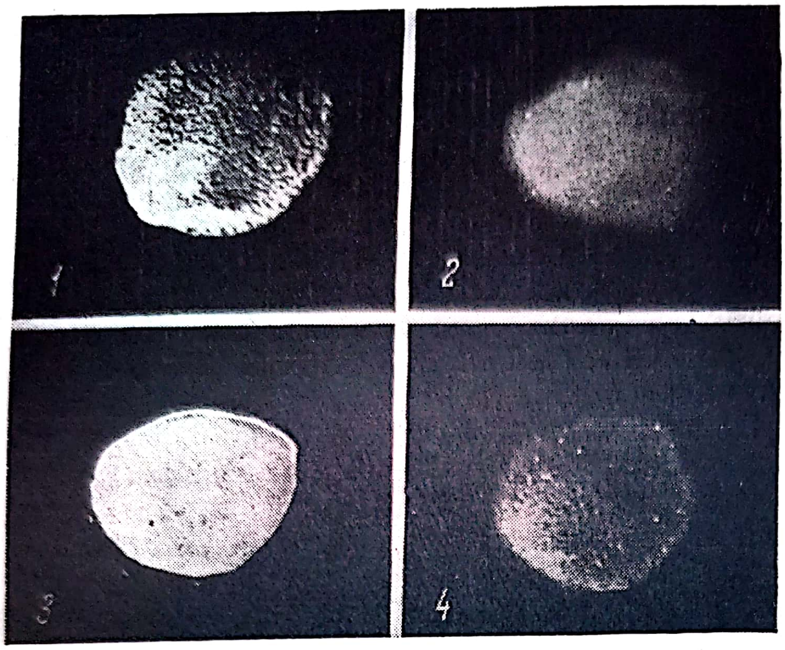


Fig. 39 — Diferențierea tulpinilor S și R de *Brucella abortus*, prin aglutinarea cu soluție de tripaflavină 1/1000 și cu ser antibrucelic diluat 1/10 (după Schindler)

1 — tulpina R de *Br. abortus*, aglutinată prin soluția de tripaflavină 1/1000; 2—aceeași tulpină nu aglutinează prin serul antibrucelic diluat 1/10; 3 — tulpina S de *Br. abortus*, neaglutinată prin soluția de tripaflavină 1/1000; 4 — aceeași tulpină e aglutinată prin serul antibrucelic diluat 1/10

— deoarece nu se produce o acidifiere a mediului, producția de alcali neutralizînd acizii formați. Fermentarea zahărului se pune în evidență prin dozări cantitative.

Toate speciile genului *Brucella* se dezvoltă în lapte, pe care îl alcalinizează, fără a-l coagula. Ele nu lichefiază gelatina și serul coagulat. Nu formează indol și nu transformă decît în proporții reduse (0,5%) pentru *Br. suis*) nitrații în nitriți. Din punct de vedere al reducerii nitraților și nitriților, toate cele trei specii se comportă în linii generale la fel, adică toate reduc aceste două substanțe, iar speciile nu pot fi diferențiate pe baza modului lor de comportare față de ele. Pickett și Nelson (1954) constată însă că *Br. melitensis* este, în raport cu celelalte două specii, extrem de sensibilă față de acțiunea toxică a nitriților, ceea ce ar putea constitui. după autori, un mijloc de identificare a speciei *Br. melitensis*.

Brucelele hidrolizează proteinele și peptonele cu producție de SH_2 și NH_3. Producția de NH_3 este accentuată, ceea ce face ca mediile în care se dezvoltă brucelele să se alcalinizeze.

Variante în cadrul speciilor
Fazele S și R

Formele S și R, întîlnite la majoritatea speciilor Gram negative, au fost descrise și la speciile genului *Brucella*. Astfel, forma R a speciei *Br. melitensis* a fost izolată din infecțiile umane spontane și descrisă sub numele de *Br. paramelitensis*.

Formele R ale speciilor *Br. abortus* și *Br. suis* nu s-au izolat de la animale, însă asemenea forme apar pe mediile de cultură, în laborator. Trecerea de la formele S și R nu se face însă brusc, ci treptat, în timp, ajungîndu-se în cele din urmă la o formă R tipică, adică la variante care dau pe agar colonii aspre, cu marginile neregulate, iar în apă fiziologică suspensii instabile. Formele intermediare se mai numesc SR sau RS, după cum predomină un caracter sau altul.

Unele tulpini de laborator nu-şi modifică însă aspectul cultural pe agar, adică formează colonii de tip S, cu suprafaţa netedă, bombată şi cu marginile regulate, şi, cu toate acestea, ele nu au o suficientă stabilitate în apă fiziologică. Suspensiile din germenii acestor tulpini aglutinează prin fierbere şi sub influenţa tripaflavinei şi deci nu pot fi folosite pentru prepararea antigenului necesar reacţiei de seroaglutinare. Mai mult încă, antigenic, formele R nu sînt identice cu formele S, şi un ser preparat cu primele aglutinează la un titru mic pe cele din urmă. Asemenea tulpini sînt socotite tot variante R, sau RS sau SR (adică forme intermediare), deşi nu au toate însuşirile care caracterizează această formă. Ravaioli (1954) constată că formele R sînt mai sensibile ca cele S faţă de unele antibiotice, ca streptomicina, aureomicina, terramicina şi cloramfenicolul. Prin folosirea luminii oblic transmise, se pot pune în evidenţă şi diferenţe privind aspectul coloniilor la formele S şi R (Henry 1933, White şi Wilson, 1951).

Tabelul 29

Caracterele diferenţiale ale formelor S şi R de Brucella

Metoda de diferenţiere	Forma S	Forma R
Proba Pampana (suspensii de germeni în soluţie 0,1—0,2% de tripafavină; proba se face în tuburi ca pentru aglutinarea lentă; se poate face şi rapid pe lamă cînd se amestecă o picătură dintr-o suspensie densă de *Brucella* cu o picătură de tripaflavină, soluţie 0,2%. Tripaflavina poate fi înlocuită cu rivanol (Zagorodski)	Suspensia este stabilă	Suspensia aglutinează în 24 ore la 37°C
Proba Burnet (suspensiile conţinînd 1 miliard de germeni pe 1 ml, se fierb 2 ore la 100°C, pe baie de apă şi se păstrează apoi la temperatura camerei)	Suspensia rămîne omogenă	Suspensia aglutinează
Proba Michaelis (suspensii de germeni de densitatea tubului 1 sau 2 din scara Mc. Farland în ser fiziologic cu pH = 2,2 şi 6,2 se pun la temperatura camerei, precum şi la 37°C	Suspensia rămîne omogenă, după 24 ore la 37°C sau la temperatura camerei	Suspensia aglutinează la pH=2,2, nu aglutinează la pH=6,6
Serul aglutinant S	Pozitiv la titrul maxim al serului	Pozitiv la un titru redus în raport cu titrul serului
Serul aglutinant R	Pozitiv la titrul redus în raport cu titrul serului	Pozitiv la titrul maxim al serului

Compoziţia chimică. Diverşi cercetători au identificat în celulele speciilor genului *Burcella* o serie de fracţii chimice dintre care două au fost mai îndeaproape cercetate şi anume: complexul glucido-lipido-polipeptidic şi complexul nucleoproteinic. Primul complex a fost obţinut întîi de Lisbonne şi Monnier (1936) dintr-o tulpină de *Br. melitensis* şi apoi de Pop şi colaboratorii (1938—1939) din toate speciile genului. El reprezintă în medie 3% din celula bacteriană, e toxic pentru şoarece în doză de 0,1 mg; produce anticorpi şi dă reacţii alergice la animalele infectate. Complexul celor trei specii nu diferă din punct de vedere chimic de la o specie la alta (Dîmboviceanu şi col. 1938, Vanghelovici şi col. 1938). Nucleoproteina brucelică a fost extrasă de Topping (1934) prin simpla menţinere a suspensiilor în apă alcalină. Complexe similare au fost izolate şi de Stahl şi col. (1939).

Rezistenţa. Brucelele nefiind sporulate pot fi uşor distruse prin diverşi factori fizici sau chimici. Temperatura de 65°C le omoară în 5—10 minute, cea de 60°C în 10—15 minute şi cea de 55°C în 25—30 de minute. Tulpinile de *Br. melitensis* se distrug de asemenea la rece într-un timp relativ scurt. Se constată, astfel că la 0°C ele nu mai sînt transplantabile decît cel mult după 5 zile.

Brucelele sînt sensibile la fel la uscăciune. *Br abortus* se distruge în carne sărată şi ţinută apoi la rece. In schimb, *Br. suis* este, după unii autori, foarte rezistentă şi nu se distruge din carne prin răcire, sărare sau tratare cu nitraţi. Fierberea este în acest caz, singurul mijloc eficace de sterilizare.

Diversele antiseptice omoară brucelele în timp scurt. Soluţia 1% de acid fenic le distrug în 5 ore, iar în concentraţie de 3% în 100 de minute. Formolul 0,5% le distruge în 5 minute; laptele de var 1/20 în $3\frac{1}{2}$ ore; sublimatul 0,01% în cîteva minute; hipermanganatul de potasiu 1/5 000, în 10 minute; acidul clorhidric 1%, în 20 de minute. Alcoolul, glicerina pură sau distilată, diluată 1/50, sînt de asemenea nocive pentru germeni. Unele substanţe colorante sînt foarte active. Astfel, după Jeney şi Zsolnai (1955) dezvoltarea germenilor este inhibată de verdele malachit în diluţie de 1/1 000 000, de violetul de genţiana, cristalul violet, verdele brillant, în diluţie de 1/500 000, de albastru de toluidină şi albastru Victoria, în diluţie de 1/250 000 etc. Dintre compuşii bazici, tripaflavina inhibă creşterea la diluţia de 1/1 000 000.

Brucelele se conservă însă timp îndelungat în produsele patologice: organe, secreţii, precum şi în pămînt sau apă. S-a stabilit că în apa sterilizată germenii trăiesc 42 de zile, în apă nesterilizată 7 zile, în apă de mare 25 de zile, în pămînt steril 72 de zile, în pămînt nesteril 20 de zile, în apă fiziologică sterilă 3 luni. In conţinutul stomacal sau intestinal păstrat la rece, germenii sînt încă vii după 6 luni. Se conservă cîteva luni în fetuşii avortaţi şi în învelitorile materne. Rezistă la putrefacţie.

In culturi, la temperatura camerei, germenii se conservă luni sau chiar ani de zile. Bulionul simplu, mediul ser-gelatină-agar al lui Bang, agarul glicerinat, gelatina glucozată, sînt favorabile conservării. Durata conservării tulpinilor se prelungeşte dacă tuburile sînt închise la flacără. Practic, tulpinile se transplantează din 2 în 2 luni și pe păstrează la întuneric și la temperatura camerei după ce au fost incubate, timp de 24—48 de ore, la 37°C.

Brucelele sînt sensibile față de unele antibiotice ca streptomicina, cloramfenicolul, aureomicina și teramicina. Cele trei specii nu se comportă, după Ravaioli (1954), la fel. *Br. suis* este în general, cea mai sensibilă, iar *Br. melitensis* cea mai rezistentă, în timp ce *Br. abortus* ocupă o poziție intermediară.

INFECȚIA BRUCELICA

Germenii din genul *Brucella* nu pun în libertate, nici in vivo, nici in vitro, o toxină solubilă și nu conțin în soma lor vreun complex dotat cu proprietăți toxice deosebite. Într-adevăr, filtratele culturilor de *Brucella* ca și germenii morți sînt suportați de animale în doze însemnate.

Infecția experimentală. În condiții experimentale, infecția brucelică poate fi reprodusă la numeroase specii de animale.

Cobaiul este animalul cel mai sensibil și el se folosește în laborator pentru inoculările experimentale. Toate tipurile îl pot infecta, dar tulpinile de *Br. melitensis* și *Br. suis* sînt de regulă mai patogene decît cele de *Br. abortus*. Astfel se afirmă că *Br. abortus* produce infecții manifeste numai la 66% din animalele inoculate. Se constată însă că unele tulpini de *Br. abortus* sînt extrem de patogene, așa că în mod practic testul patogenității pentru cobai nu poate fi folosit la diferențierea tipurilor.

Infecția, la cobai, se realizează pe cele mai variate căi: administrarea per os sau depunerea culturii fie pe pielea rasă, fie pe mucoasa conjunctivală intactă, sau inocularea subcutană, intraperitoneală, intravenoasă, intracerebrală etc. După unii autori, chiar pielea intactă poate fi traversată de germeni.

Dozele mari de germeni provoacă o infecție acută: dozele mici, precum și dozele mari, dar provenind din tulpini de germeni puțin virulenți, produc infecții cronice. Tulpinile recent izolate sînt puțin active pentru cobai și ele produc o infecție care durează 100—200 de zile. Prin treceri pe cobai, durata infecției se reduce și asemenea tulpini omoară cobaii, inoculați intravenos sau intracranian, într-un timp variind de la cîteva zile la 3—4 săptămîni. Doza minimă infectantă, pentru asemenea tulpini, este destul de mică. Astfel, de regulă, 100 de bacterii sînt capabile să provoace o infecție aparentă. Zdrodovski (1953) afirmă că se pot produce infecții aparente chiar prin administrarea unui foarte mic număr (2—5) de germeni.

Forma acută apare în urma inoculărilor masive de germeni și se manifestă inițial prin hipotermie, iar mai tîrziu prin hipertermie. Greutatea corporală scade constant. Moartea este precedată de o fază de excitație și apoi de comă.

Infecțiile provocate printr-un număr mic de germeni au o evoluție lentă, care cuprinde trei faze (Zdrodovski, 1953). În faza întîi, reacțiile serologice pot fi pozitive, dar germenii nu se izolează din sînge sau organe; în faza a doua, germenii pot fi izolați din ganglionii limfatici aferenți porţii de intrare, dar nu se găsesc în sînge; germenii au constituit ceea ce unii cercetători numesc complexul primar brucelos; în faza a treia, infecţia se generalizează, germenii trecînd din leziunea primară în sînge, de unde pot fi izolaţi; din sînge, germenii se localizează în organe — în special organele hematopoetice — splină, măduva osoasă — unde se conservă mult timp; atunci cînd animalul nu moare în perioada de generalizare a infecţiei, se observă că numărul germenilor se reduce treptat şi culturile devin negative după 1—2 ani de la data infecţiei.

Evoluţia infecţiei este condiţionată şi de starea de întreţinere a animalelor. Cobaii cu carenţe alimentare fac forme mai grave şi cu o evoluţie mai rapidă, decît cobaii normal alimentaţi.

La autopsia animalelor moarte, în urma unei forme acute de bruceloză, se constată leziuni congestive şi hemoragice caracteristice oricărei septicemii. Masculii tineri pot prezenta o periorhită purulentă, asemănătoare celei ce se produce în urma inoculării, pe cale intraperitoneală, a bacilului morvei.

Germenii se izolează din sînge şi organe.

În formă cronică, simptomele sînt puţin aparente. Anemia apare ca cel mai constant simptom; greutatea corporală scade în general, la începutul infecţiei, dar, pe urmă, ea poate creşte. În cazul inoculării subcutane, la locul de inoculare se formează un abces; mai frecvent atunci cînd tulpina aparţine speciei *Br. melitensis* sau speciei *Br. suis* şi mai rar cînd aparţine speciei *Br. abortus*. Ganglionii aferenţi sînt hipertrofiaţi; aglutininile apar regulat în sînge. Moartea survine neregulat şi dă impresia că este datorită altor cauze decît germenilor inoculaţi. Într-adevăr, se observă că mortalitatea în loturile de cobai infectate nu este mai mare ca în cele neinfectate. La autopsia animalelor infectate, moarte sau sacrificate între a 7-a şi a 15-a săptămînă, se pot constata leziuni supurative şi cazeoase în ganglionii limfatici; splina, hipertrofiată şi cu foliculii măriţi, poate prezenta zone necrotice şi abcese mari, de 1—7 mm; ficatul este mărit şi conţine zone necrotice şi abcese; periostite, precum şi leziuni ale măduvei oaselor şi ale articulaţiilor pot fi frecvent întîlnite la cobaii infectaţi cu diverse tulpini. În pulmon, se pot găsi foliculi mici, tari, lucioşi, formaţi din celule epitelioide şi limfocite, asemănători celor produşi de bacilii tuberculozei.

După Zdrodovski, la cobai, se disting histopatologic două tipuri de leziuni, şi anume: tipul areactiv şi tipul reactiv. Tipul areactiv se caracterizează printr-o uşoară hiperplazie a ţesutului reticulo-endotelial. În tipul reactiv se constituie noduli tuberculoizi în diverse organe (ganglioni limfatici, splină, ficat, măduva oaselor, pulmon, testicul etc.). Leziunea nodulară tuberculoidă poartă numele de „granulom brucelos".

Tulpina B 19, în doză de 2,5 miliarde de germeni, produce la cobai leziuni de tip areactiv. Aceste leziuni sînt mai accentuate la cobaii sacrificaţi după 30 de zile (culturi pozitive) decît la cei sacrificaţi după 60 de zile (culturi negative) (Şerbănescu şi col. 1953).

Bacilii se izolează de la cobaii infectaţi cu tulpini virulente şi prezentînd forme cronice de boală. Culturile sînt pozitive din abcese, ganglioni, splină, ficat, măduva oaselor etc. Ei se elimină frecvent în cursul infecţiei, prin urină şi în acest caz îi putem izola, după moarte, din rinichi. La cobăițele pline, nu se observă constant o localizare a germenului pe uter. După unii cercetători, *Br. melitensis* nu se fixează pe uter și nici pe glanda mamară și cobăițele infectate nasc la termen pui vii, îi alăptează, și, în general, nu-i infectează. *Br. abortus*, după unii autori, are, în comparație cu celelalte specii de *Brucella*, o afinitate mai mare pentru uter; administrată pe diverse căi, la cobăițe sau iepuroaice pline, ea provoacă avortul la 55% din animalele infectate.

Șoarecele. Br. abortus este patogenă pentru șoarece. Inoculată pe cale intravenoasă, în doză de 0,2 ml dintr-o suspensie avînd turbiditatea tubului 1 din scara Mac Farland, ea produce după 15—25 de zile o hipertrofie a splinei. Gradul de hipertrofiere, după acest interval de timp, variază cu tulpina. Iată rezultatele obținute de Cîrsteț cu patru tulpini diferite de *Br. abortus*, izolate în R.P.R.

Tabelul 30

Tulpina	Numărul șoarecilor utilizați	Greutatea cadavrelor de la toți șoarecii din experiență g	Greutatea splinelor de la toți șoarecii g	Greutatea medie a unei spline g
1 507	10	187,0	6,362	0,636
30 380	9	163,0	1,732	0,192
195	9	147,0	2,154	0,239
3 507	10	165,5	1,284	0,128

Greutatea medie a splinei unui șoarece normal și care cîntărește 18—20 g este de 0,074 g.

Pe cale intravenoasă, doza de 0,5 ml dintr-o suspensie avînd turbiditatea tubului nr. 2 din scara Mac Farland omoară toți șoarecii după 3—4 zile. Pe cale intraperitoneală, aceeași doză omoară șoarecii pînă în a cincea zi.

Doza de 500 000—2 miliarde de germeni virulenți (*Br. abortus* sau *Br. suis*), administrată parenteral, produce leziuni în diverse organe. Leziunile sînt mai intense la animalele sacrificate după 6 și 30 de zile decît la cele sacrificate după 60 de zile. Leziunile constau din granuloame epitelioide, perivascularite, congestii etc., și ele sînt mai intense în splină și ficat; creierul și cordul sînt normale (Șerbănescu și col., 1953). Bacilii sînt prezenți în organe chiar după 60 de zile de la inoculare. Pe cale digestivă chiar germenii virulenți sînt puțin activi și, administrați în doze mari, și 5 zile consecutiv, nu produc leziuni și de regulă nu sînt prezenți în organe (Ionică).

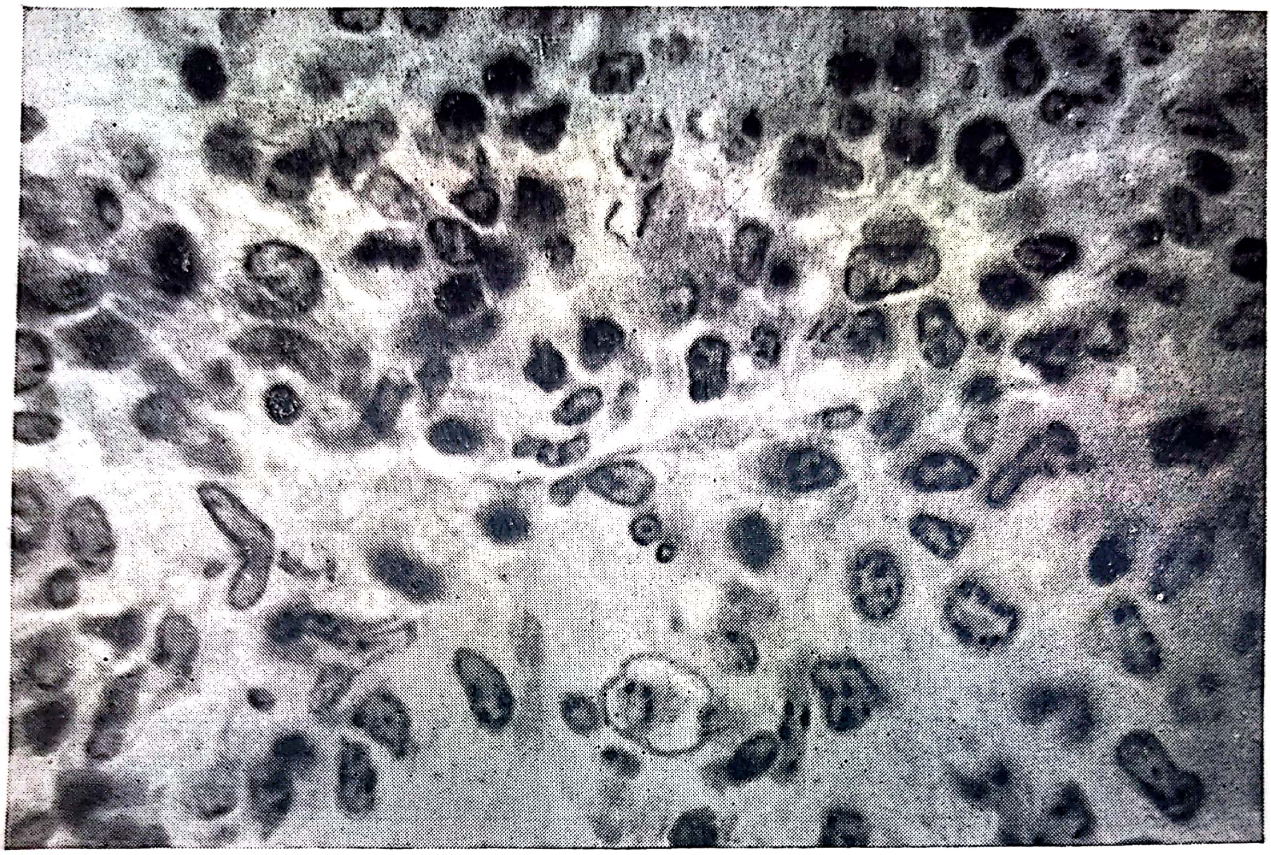


Fig. 40 — Bruceloză experimentală la şoarece (după C. Şerbănescu)
Secţiune prin splină. Se observă un granulom brucelic cu epiteloide

Tulpinile atenuate — B 19 sau Gherghiţa — sînt suportate bine de şoareci şi produc leziuni discrete, reprezentate prin hiperplazii ale ţesutului reticulo-endotelial, reacţii histiocitare şi perivascularite. Jacotot şi Valée (1953) constată că în doze mari chiar tulpinile atenuate provoacă moartea şoarecilor. Astfel, tulpina vaccinală cu care au lucrat autorii omora, în doză de 5 miliarde de germeni, 50% din şoareci, iar în doză de 25 miliarde, 95% (inoculare intraperitoneală). Autorii constată că animalele inoculate pe cale intraperitoneală sau intravenoasă reacţionează în acelaşi fel.

Iepurele şi şobolanul pot fi infectaţi cu tulpini virulente, fără însă ca la aceste animale germenii să provoace leziuni caracteristice. În sîngele şobolanilor sau şoarecilor infectaţi nu se găsesc decît rar aglutinine.

Jacotot şi Valée (1953) infectează constant şobolanii (femele în greutate medie de 100 g), administrînd cultura direct în cord — tulpini de *Br. abortus* vaccinale sau virulente. Doza activă este de 2,5 miliarde. Animalele mor după 2—71 de zile; tulpinile virulente au omorît animalele după 2—22 de zile, iar cele vaccinale după 35—71 de zile. Şobolanii morţi scurt timp după infecţie au prezentat leziuni în ficat şi splină, uneori pericardită şi enterită; cei morţi mai tîrziu au prezentat, ca leziune principală, o hepatită acută.

Pisicile sînt receptive şi pot fi infectate per os şi parenteral cu toate cele trei tipuri. Infecţia poate evolua aparent sau inaparent. Formele apa-

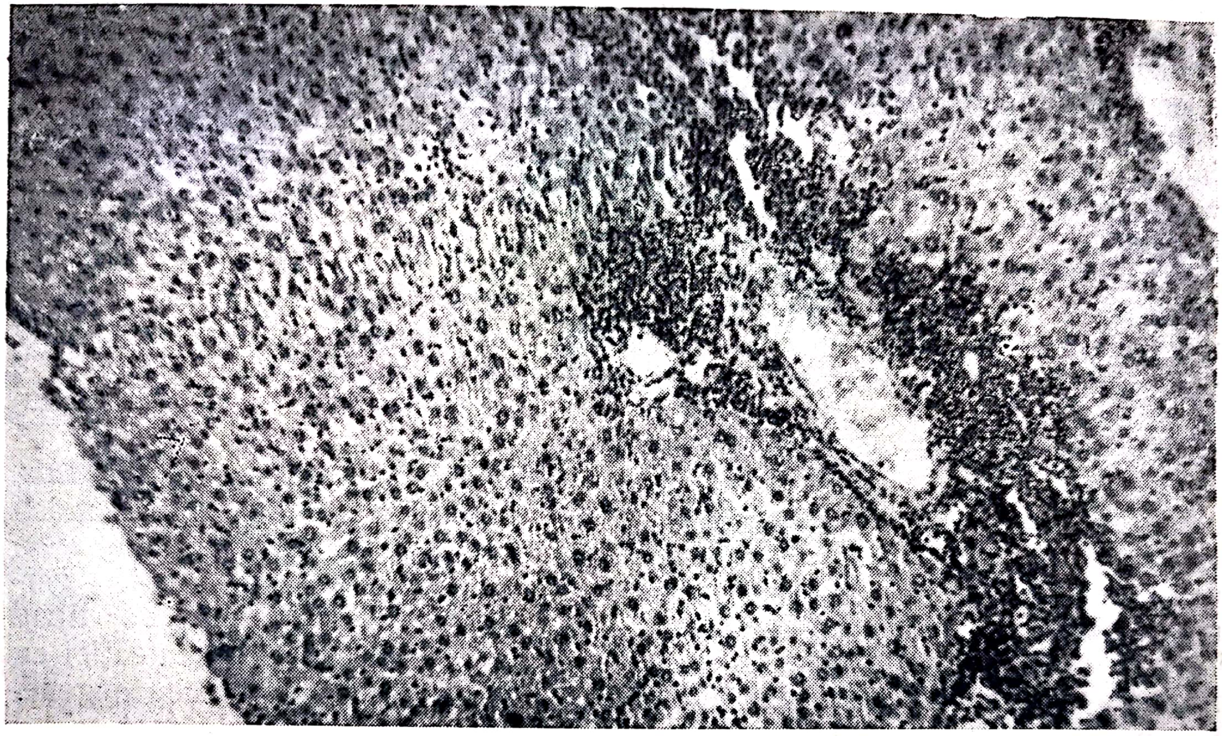


Fig. 41 — Bruceloză experimentală la şoarece (după C. Şerbănescu)
Secţiune prin ficat. Se observă un manşon perivascular

rente se manifestă prin febră şi slăbire şi mai rar prin avort sau artrite. Aglutininile apar 4—18 zile după infecţie. La animalele moarte, bacteriile sînt prezente în măduva osoasă şi organele parenchimatoase (Neceaev, 1952).

Maimuţele, în specia *Macacus rhesus, Macacus cynomolgus* şi *Macacus sinicus,* sînt propice cercetării puterii patogene a diverselor tulpini de *Brucella,* aşa cum a arătat Bruce încă din 1893 pentru *Br. melitensis.* Maimuţele pot fi infectate pe diverse căi : per os, parenteral, dar calea intracerebrală este cea mai severă. *Br. melitensis* este mai patogenă decît *Br. abortus.* Se afirmă că pentru a infecta maimuţele cu *Br. abortus* sînt necesare doze de 1 000 de ori mai mari decît cele corespunzătoare de *Br. melitensis.* Infecţia experimentală cu *Br. melitensis,* la maimuţe, evoluează similar cu infecţia naturală la om ; după o incubaţie de 2—20 de zile animalele devin apatice, pierd pofta de mîncare, greutatea corporală scade ; temperatura, normală dimineaţa, se ridică după masă, atingînd maximum în cursul serii sau al nopţii. În faza febrilă a bolii, hemoculturile sînt de regulă pozitive. Serul sanguin al animalelor infectate conţine constant aglutinine ; acestea sînt prezente chiar în cazurile cînd infecţia nu este însoţită de tulburări clinice. Starea febrilă durează 5—15 zile, şi animalele, în marea lor majoritate, se vindecă, recidivele fiind o excepţie. La animalele moarte, se constată o hipertrofie a splinei şi ganglionilor limfatici ; germenii se pot izola din ganglionii limfatici, splină şi urină.

Capra, oaia, vaca, porcul, calul, cîinele, pot fi infectaţi experimental cu tulpini virulente de *Brucella.* Infecţia se realizează pe diverse căi, enteral şi parenteral. Injecţia în glanda mamară sau depunerea culturii la deschiderea canalului galactofor produce la vaci infecţia mamelei. Cele trei specii de *Brucella* nu se comportă în acelaşi fel faţă de diversele specii animale. Bovinele, de exemplu, sînt mai sensibile faţă de *Br. abortus* decît faţă de *Br. melitensis* sau *Br. suis*. *Br. suis*, tipul american, produce la vaci mamite, în timp ce tipul european nu provoacă simptome clinice, deşi se admite că poate duce la apariţia aglutininelor (infecţie naturală, de contact). Porcul este mai sensibil faţă de *Br. suis* decît faţă de *Br. abortus*. Infecţia la porcine se poate realiza pe cale digestivă, prin organele genitale externe şi parenteral. Doza infectantă este, în general, mare. Ionică inoculînd trei porci, în vîrstă de 4—6 luni, cu cîte 100 miliarde germeni, pe cale subcutană, cu tulpini porcine recent izolate, nu a observat nici un simptom în afară de apariţia aglutininelor în sînge.

Simptomele, în cazul infecţiei experimentale a porcilor cu *Br. suis*, pot uneori să apară, şi atunci constau din avorturi, naşteri de purcei morţi sau slabi, sterilitate, paralizii etc. Infecţia organelor genitale este mai frecventă la masculi ca la femele. Vierii infectaţi experimental pot elimina germenii o dată cu sperma, pînă la 3 ani. Aglutinine apar în sînge, dar titrul lor este mai ridicat în cazul infecţiei cu *Br. suis* decît în cazul infecţiei cu *Br. abortus*. În plus, în cazul infecţiei cu *Br. abortus* se produce, în general, o sterilizare spontană a organismului, ceea ce se întîmplă mai rar şi mai greu în cazul infecţiei cu *Br. suis*.

Infecţia brucelică naturală

Spontan, germenii din genul *Brucella* infectează omul şi majoritatea mamiferelor domestice sau sălbatice. Păsările sînt şi ele receptive.

Infecţia umană

Infecţia la om este de origine animală. Nu se cunosc cazuri de transmitere a bolii de la om la om. Infecţia se observă mai frecvent la copii şi adulţi şi mai rar la bătrîni, care sînt în general mai puţin receptivi.

Arie geografică şi frecvenţă. Cazurile de febră ondulantă nu sînt rare; astfel, în Danemarca s-au descoperit pînă în 1930, 1 800 de cazuri; în Suedia, tot pînă în 1930, 301 cazuri; în Elveţia, 474 de cazuri; în Germania, 146; în Statele Unite, pînă în 1929, 1 670 de cazuri; în Olanda, 50 de cazuri. După date şi mai recente (1950), în U.S.A. se diagnostică anual 4 000 de cazuri de bruceloză, iar în Anglia 1 300. În R. P. Bulgaria cazurile sînt rare. Pînă în 1946 (Kujumgiev) s-au diagnosticat numai 10 cazuri. În Cehoslovacia, infecţia umană pare a fi foarte răspîndită. Niznansky (1954) afirmă, de exemplu, că din 653 de medici veterinari examinaţi, 5,2% prezentau forme clinice de bruceloză, iar 12,4 forme inaparente.

În Romînia, s-au identificat cazuri de febră ondulantă la persoane care locuiau în regiuni cu epizootii de avort infecţios şi care veneau frecvent în contact, fie cu vaci infectate, fie cu lapte infectat. Primele cazuri au fost diagnosticate de Combiescu (1930), apoi de Turcu şi Moraru

(1932). Tătăranu (1933) constată că 27,4% din îngrijitorii unor efective bovine infectate aveau aglutinine față de *Br. abortus*. Suhățeanu și Albescu (1934) pe 3 700 de persoane examinate serologic obțin un procent de 1,91% reacții pozitive, pentru *Br. abortus*. Cernăianu și Jitarciuc (1935) au diagnosticat febra ondulantă la doi medici veterinari, care au făcut operații obstetricale la vaci infectate cu *Br. abortus*. Iliescu (1933), Suhățeanu și Panaitescu (1933), Dimitriu, Cozma și Bruckner (1938) au descris aspectele clinice ale infecției brucelice la om, în țara noastră. Procentul morbidității în R.P.R., pe 9 ani, este de două cazuri la 1 milion de locuitori (Pop, Marinov și Ogner, 1942) față de 8,3 în Germania, 18,4 în Suedia și 150 în Danemarca.

Etiologie. Toate cele trei specii de *Brucella* pot infecta omul. Huddleson, de exemplu, în S.U.A. a examinat 236 de tulpini de *Brucella* izolate de la om și a găsit că 73 aparțineau speciei *Br. melitensis*, 96 speciei *Br. suis* și 67 speciei *Br. abortus*. Leyer și Eddie tot în S.U.A. constată că din 34 de tulpini izolate din infecții umane, 21 aparțin speciei *Br. melitensis*, 12 speciei *Br. suis* și 1 speciei *Br. abortus*. Hardy izolează de la bolnavii din statul Iova (S.U.A.) 49 de tulpini, din care 35 sînt de *Br. suis*, iar 14 de *Br. abortus*; Hardy semnalează că din 217 lucrători din abatoarele unde se tăiau porci, 30 conțineau aglutinine în serul lor, iar 15 lucrători, cu seroreacții pozitive prezentau simptome de febră ondulantă. Negel și Frei afirmă că infecții cu *Br. suis* s-au produs și în Elveția. In Danemarca (Thomson, 1934), în Romînia (Pop, Marinov, Ogneru, 1942), unde *Br. melitensis* este absentă, s-au semnalat infecții umane produse de *Br. abortus*, dar nu s-au constatat, în general, infecții în focarele de bruceloză porcină. Recent (1955), Pop a constatat aglutinine antibrucelice la oamenii care erau în contact exclusiv cu porcine bruceloase, iar de la un om bolnav au izolat o tulpină de *Br. suis*. Oczkowski (1954) semnalează și el cazuri de infecție cu *Br. suis* în R. P. Polonă. După datele pe care le avem pînă în prezent trebuie să socotim totuși că *Br. suis* din R.P.R., precum și din alte țări europene, nu produc decît rar infecții clinice la om. Această afirmație nu este valabilă pentru *Br. suis* din S.U.A., așa cum reiese de altfel din datele de mai sus. Există, după cît se pare, diferențe evidente în ceea ce privește patogenitatea pentru om, între varietatea americană și europeană de *Br suis*.

Capacitatea speciei *Br. abortus* de a infecta omul este sigură, așa cum reiese din numeroase cercetări. Primele cazuri de burceloză umană, produsă de *Br. abortus*, au fost semnalate în S.U.A., în 1911, de Möhler și Traum. Autorii identifică infecția la doi copii care consumau lapte de la vaci bruceloase și care au prezentat, clinic, o amigdalită însoțită de adenopatie. După această dată, cazuri numeroase au fost descrise în S.U.A., precum și în alte țări. Se afirmă, pe baza unor observații făcute în special în țările nordice, că nu toate tulpinile de *Br. abortus* sînt patogene pentru om S-a semnalat, în sprijinul acestei teze, inegala răspîndire a infecției umane în regiunile puțin infectate cu *Br. abortus*. Astfel, în unele regiuni, infecția umană merge paralel cu cea bovină, iar în altele nu se semnalează decît infecții la bovine. Se susține că în aceste din urmă regiuni tulpinile de *Br.*

abortus sînt apatogene pentru om. Unele cercetări experimentale par a sprijini această afirmaţie. Astfel, administrarea la om a unui lapte care conţinea germenii unei tulpini de *Br. abortus,* dintr-o regiune fără cazuri de burceloză umană, nu a produs infecţia. Herickson, a constat, în acest sens, că febra ondulantă în Suedia este limitată la cîteva regiuni, deşi avortul infecţios este mult mai întins. Examinînd paralel tulpini izolate de la om şi de la bovine, autorul nu a constat însă, între aceste tulpini, nici o diferenţă decelabilă prin mijloace de laborator.

Date epidemiologice. Infecţia umană este condiţionată nu numai de prezenţa germenului, ci şi de posibilităţile lui de a ajunge în cantităţi masive în organism, precum şi de receptivitatea acestui organism. În regiunile în care avortul epizootic este foarte întins, infecţiile inaparente par a fi destul de frecvente. Aceste infecţii se pare că lasă organismului un grad oarecare de imunitate. Se observă, astfel, că infecţiile umane sînt, după unele statistici, mult mai frecvente în marile oraşe, unde laptele se consumă în marea lui majoritate după pasteurizare şi unde posibilităţile de imunizare prin infecţii inaparente sînt deci mai reduse decît la ţară. Aici vacile infectate răspîndesc o enormă cantitate de germeni capabili să infecteze, dar şi să imunizeze. În ceea ce priveşte capacitatea laptelui, provenind de la vaci bruceloase de a infecta omul, ea este, după unii autori îndoielnică. Clapp (1953), examinînd serul sanguin a 45 de persoane, care consumau lapte fiert sau nefiert, provenind de la vaci ce eliminau brucele prin lapte, constată că una singură conţinea aglutinine antibrucelice. Autorul conchide că omul este relativ rezistent la bruceloza de ingestie și că infecţia omului nu depinde de consumarea laptelui infectat, ci de alte cauze sau de un factor secundar, în prezent necunoscut. Insușirile tulpinii de *Br. abortus,* așa cum s-a arătat mai sus, îşi au importanţa lor în producerea sau neproducerea infecţiei la om. Ceea ce pare sigur este că omul nu se infectează decît în cazul cînd este supus unui contact prelungit şi masiv cu germenul. Cu cît acest contact este mai prelungit și mai masiv, cu atît pericolul de infecție este mai mare. Se pare că omul este un filtru foarte permeabil pentru brucele şi că acestea îl pot traversa fără a lăsa urme, fără a se fixa în ţesuturi şi a provoca reacţii imunobiologice.

Omul nu se comportă la fel faţă de cele trei specii de *Brucella ;* cea mai mare sensibilitate o are faţă de *Br. melitensis,* urmează apoi *Br. abortus* şi *Br. suis* tipul american. Tipul *Br. suis* danez este cel mai inofensiv ; el poate traversa organismul uman în cantităţi considerabile, fără a lăsa urme într-un fel sau în altul. Dar, în cazul unui contact masiv, atunci cînd miliarde de brucele trec printr-un organism uman, unele din ele, datorită fie faptului că posedă proprietăţi speciale de patogenitate, fie faptului că organismul pe care îl traversează prezintă o stare particulară de receptivitate, se pot fixa în ţesuturi şi duce fie la apariţia anticorpilor, fie chiar la o infecţie clinică.

La om ca şi la animale se constată diferenţe de receptivitate în raport cu vîrsta. Cazurile cele mai frecvente se întîlnesc la oamenii a căror vîrstă e cuprinsă între 30—39 ani. Copii pînă la 5 ani sînt destul de rezistenţi. Din 949 cazuri diagnosticale de Lovell (1951) numai 7 erau la copii sub 5 ani.

Tulpinile paramelitensis. Unii autori (Sergent și col., 1907) au izolat de la capre cu seroreacții pozitive sau de la oameni cu simptome de febră ondulantă (Basset-Smith, 1921) și care se găseau în aria geografică a tipului *Br. melitensis,* tulpini care morfologic și cultural, nu se deosebesc de *Br. melitensis,* dar nu sînt aglutinate de un ser activ față de această specie. Asemenea tulpini au fost numite de Nègre și Raynaud (1912) *„paramelitensis"* și sînt considerate ca variante ale tipului *melitensis.* Prin mijloace artificiale s-a reușit, de altfel, să se transforme o tulpină de *melitensis* în *paramelitensis.* Tulpinile *paramelitensis,* spre deosebire de cele de *melitensis,* aglutinează, prin încălzire la 65—70°C; ele reprezintă, după cît se pare, formele R ale speciei, și s-au produs în organismul uman ca o consecință a acțiunii unui factor avînd însușirea de a transforma formele S în R, de a rofiza deci formele S. Acest factor a fost găsit în serul normal de om; el este un complex fosfolipidic și izolat și adăugat mediilor de cultură, el poate transforma o tulpină de tip S, într-o cultură R. În afară de tipul *paramelitensis* s-au mai izolat și alte tipuri. Renoux (1952), de exemplu, izolează de la animale din Tunis și sudul Franței tulpini cu caractere intermediare între *Br. melitensis* și *Br. abortus* și pe care autorul le încadrează într-o specie nouă, pe care o numește *Br. intermedia.* O brucelă atipică s-a izolat inițial în Noua Zeelandă și apoi și în alte țări (Niznansky), și ea se caracterizează printr-o mare virulență, deși aspectul cultural este de tip R. Produce de regulă, orhiepididimită la berbeci.

Izvorul de infecție pentru om îl constituie animalele bolnave, așa cum a reieșit, în primul rînd din cercetările făcute de Zammit în cadrul comisei engleze, care a lucrat între anii 1904 și 1907 în insula Malta, în scopul elucidării problemelor legate de etiologia și epidemiologia febrei de Malta. *Br. melitensis,* așa cum a rezultat din aceste cercetări, se transmite de regulă prin laptele caprelor sau oilor infectate. Numeroasele cazuri de febră ondulantă, semnalate inițial în insula Malta, erau datorite frecvenței infecției la capră. Într-adevăr, din totalul caprelor examinate de comisia engleză 40% dădeau reacții pozitive de aglutinare pentru *Br. melitensis,* iar 10% eliminau germenii prin lapte.

Laptele de vacă poate conține *Br. abortus* și persoanele care consumă un asemenea lapte se pot uneori infecta. Cazurile de infecție prin lapte par a fi totuși rare. În afară de lapte, omul se poate infecta manipulînd carnea sau alte produse infectate, mulgînd sau îngrijind vacile infectate. Medicii veterinari sînt în mod deosebit expuși acestei infecții, pentru că ei vin în contact masiv și direct cu germenul, în special în cursul diferitelor intervenții obstetricale: distocii, retenții de învelitori etc., care survin frecvent la animalele infectate cu *Br. abortus.*

Porcii infectați constituie un izvor important de infecție pentru om, mai ales în cazul cînd infecția este produsă de varietatea americană de *Br. suis.* Sînt expuși la îmbolnăvire, în mod special, îngrijitorii și muncitorii din abatoare. Ingestia sau inhalația și, în general, contactul repetat și prelungit cu materialul infectant asigură instalarea infecției la om. Oamenii care vin sporadic în contact cu germenul de regulă nu contractă boala. Cercetătorii din laboratoarele de bruceloză, care manipulează material infecțios, izolează și întrețin tulpinile, fac cercetări pe animale de experiență, se infectează aproape constant.

Poarta de intrare. De cele mai multe ori, în condiții naturale, germenii ajung în organism pe cale digestivă. Infecția aeriană este posibilă și este foarte probabil că ea se realizează destul de frecvent. În aerul grajdurilor cu animale infectate se găsesc desigur numeroase brucele care ajung o dată cu aerul în pulmon. Infecția se produce și pe cale cutanată.

Simptome. Infecția brucelică, la om, îmbracă, după Parnas și colaboratorii (1953), Tuszkiewicz și colaboratorii (1953) etc. trei forme clinice principale, și anume :

1. forma clinică cu simptome subiective evidente sau bruceloza activă ;
2. forma clinic inaparentă, dar cu reacții serologice pozitive sau dubioase ;
3. forma clinic inaparentă sau forma cronică, fără reacții serologice pozitive sau dubioase, dar cu reacții alergice pozitive.

Infecția clinic aparentă evoluează ca o toxiinfecție alergică și are drept simptom principal și caracteristic febra ; aceasta variază ca intensitate și durată de la un bolnav la altul. La unii este abia decelabilă, de scurtă durată și rămîne unicul simptom, în timp ce la alții este accentuată, durează un timp îndelungat și este însoțită de tulburări funcționale și anatomice.

Infecția clinică poate începe cu temperatură ridicată și continuă. Această stare, în formele maligne ale bolii, durează cîteva săptămîni și bolnavul moare fie prin insuficiență cardiacă, fie prin paralizie bulbară sau complicații pulmonare și meningiene. De cele mai multe ori însă, febra pierde, după cîteva zile, caracterul său continuu, și devine intermitentă. Temperatura este normală în cursul dimineții, dar se urcă după masă, cu un maximum variabil de la un caz la altul, de 37,5—38°C, chiar 39°C spre seară sau în cursul nopții, pentru ca dimineața să revină la normal. Această febră intermitentă poate dura cîteva săptămîni, pentru a dispărea apoi cu desăvîrșire. Uneori revine după cîteva zile sau săptămîni, pentru a constitui un nou val termic. Asemenea crize se pot repeta de 6—7 ori. Curba termică a unui bolnav de bruceloză are în consecință un aspect caracteristic, ondulant, și s-a și dat numele de febră ondulantă infecției brucelice. Majoritatea bolnavilor, pe lîngă febră, prezintă și alte simptome : insomnie, transpirație caracteristică în timpul sau chiar în afara crizelor febrile, constipație și mai rar diaree, greață, astenie, anemie accentuată, cefalee, dureri articulare, osoase și musculare, nevralgii etc. Durerile articulare pot fi trecătoare, avînd în acest caz aspecte reumatismale sau se pot menține la aceeași articulație, constituind în acest mod, artrite supurante. Infecția se poate manifesta și prin complicații pulmonare, hepatite, endomiocardite (Andreone, 1953) erupții cutanate, dermite eritemato-scvamoase (Desmonts și col., 1953), osteite (Verrotti și Forte, 1954), abcese situate în țesutul conjunctiv subcutan, paralizii trecătoare, limitate la unele grupe musculare. Tulburările nervoase sînt foarte frecvente. În general, bruceloza la om prezintă un accentuat polimorfism clinic, ceea ce se explică prin modul diferit de reacție a organismului. Nu se constată o afinitate a germenului pentru uterul în gestație și femeile infectate nu avortează. Se citează totuși în literatură cazuri în care avortonii umani au conținut brucele, dar nu s-a putut preciza rolul acestor germeni, în producerea avortului. La bărbați, germenul are afinitate pentru testicul și epididim și unele infecții umane se manifestă doar prin inflamații localizate la aparatul genital. În general, infecția brucelică are o evoluție mai gravă la oameni tratați, cu leziuni cardiace, hepatice etc. și aceștia trebuie feriți de contactul cu germenul și nu trebuie admiși în laboratoare de bruceloză.

Modificări anatomice la cazurile fatale, sînt constant observate în splină, ficat; ganglionii mezenterici, retroperitoneali etc.

Splina este mult mărită, putînd cîntări pînă la 2 500 g; ea este de culoare roșie-închis și poate conține numeroase infarcte hemoragice. Ficatul este mărit în volum, congestionat. În bruceloza cronică ficatul poate fi cirotic. Ganglionii prezintă focare purulente.

Leziuni mai puțin constante se observă în măduva osoasă. Pe traiectul intestinal se pot găsi hemoragii punctiforme și congestii; în pulmon pot fi prezente congestii, edem și catar bronhic; diverse organe și țesuturi pot conține colecții purulente.

Mortalitatea este de 2—3%. Germenii se pot izola din sînge, în timpul vieții, și din leziuni, după moarte.

Infecția la capre

Bruceloza la capre este produsă de regulă de *Br. melitensis*. Experimental, *Br. abortus* este patogenă pentru capră, dar nu se poate preciza rolul acestei specii în infecțiile naturale.

Germenul, în condiții naturale, pătrunde în organism, în marea majoritate a cazurilor, pe cale digestivă, o dată cu alimentele murdărite cu urina sau laptele animalelor infectate. Experimental, infecția se poate realiza pe cele mai diverse căi. Astfel, tamponînd pielea mamelei ușor scarificată, cu laptele infectat, s-a putut produce infecția caprelor indemne. Acest mod de infecție se poate realiza în timpul mulsului ,cînd mulgătorul trece de la o capră infectată, și care elimină germenii prin lapte, la o capră sănătoasă.

Pătrunderea materialului virulent în organism nu este urmată, în marea majoritate a cazurilor, decît de o ușoară stare febrilă, care, în infecția spontană, poate trece neobservată. Starea generală a animalului nu este cu nimic alterată. Producția de lapte rămîne normală. Animalele în regiunile în care infecția este enzootică nu avortează chiar dacă sînt pline în momentul infecției. Germenul, chiar în cazuri de infecție total inaparentă, se poate totuși izola din sînge și se conservă mult timp în unele din organele interne. El a fost izolat, de exemplu, într-un caz chiar la 9 luni după infecție. În ganglioni și glanda mamară se conservă practic vorbind tot timpul vieții animalului, o sterilizare completă a organismului fiind, după cît se pare, imposibilă. Germenul găsește, în special, în glanda mamară cele mai favorabile condiții de conservare. O simbioză se stabilește între germeni și organ, ceea ce asigură eliminarea masivă și permanentă a materialului virulent în mediul înconjurător. Eliminarea prin lapte nu este totuși constantă și perioade de bogată eliminare alternează cu perioade în care germenul este absent.

Infecția nu se transmite prin placentă la urmași. Iezii născuți din capre infectate sînt sănătoși și sug lapte infectat fără a se îmbolnăvi clinic. În serul lor sanguin apar însă aglutinine.

Uneori, infecția la capre evoluează ca o boală clinic aparentă. Cioglia și Medda (1953) și Medda și Cioglia (1954) constată că asemenea forme apar în prima perioadă a enzootiei, și ele se întîlnesc mai frecvent la animalele tinere — sub 4 ani. Cu cît infecția se învechește într-o turmă, cu atît formele inaparente sînt mai numeroase, iar cele aparente mai rare. Simptomele, în formele aparente ale infecției, constau din avort, anemie, bronșite, artrite, sinovite, conjunctivite, cheratite. Producția de lapte scade. Uneori se constată căderea părului. Bruceloza clinică a caprelor poate sfîrși cu moartea, dar de cele mai multe ori, ea trece în formă cronică.

Infecția la bovine

Etiologie. Infecția este produsă, în marea majoritate a cazurilor, de *Br. abortus*. Huddleson examinînd 263 de tulpini de *Brucella* izolate de la vaci, a găsit că 249 aparțineau speciei *Br. abortus*, 10 speciei *Br. suis* și 4 speciei *Br. melitensis*. Tudoriu și Ionică (1955) găsesc că toate cele 24 de tulpini de origine bovină pe care le-au cercetat erau de *Br. abortus*.

Arie geografică. Infecția brucelică a bovinelor este răspîndită peste tot globul. Ea este mai frecventă în țările în care bovinele sînt exploatate intensiv decît în cele cu exploatare extensivă. În țara noastră, infecția apare o dată cu importul bovinelor de rase perfecționate. Primele cazuri, descrise numai simptomatic, sînt semnalate de Stoicu (1906). În 1923, Fălcoianu și Mihăilescu diagnostică, serologic și bacteriologic, avortul epizootic la bovine în țara noastră. Într-adevăr, ei obțin un procent de 78% seroaglutinări pozitive la 1300 de vaci examinate, iar de la un avorton izolează o tulpină de *Brucella*. În 1932—1933 Riegler și Stamatin identifică bruceloza la Ferma de stat Gherghița, reușind să izoleze tulpina infectantă. Autorii au mai identificat încă două focare și anume la Codlea și Drăgănești-Slatina. De la avortonii din focarul de la Codlea, Stamatin a izolat de asemenea o tulpină de *Br. abortus*. În 1933, Turcu și Moraru izolează și ei o tulpină dintr-un avorton de vacă din com. Richiș. Cercetările au fost continuate apoi sub conducerea prof. A. Ciucă, de către Marinov (1933). Pop (1934), Oprescu (1937), Dobre (1937). După 1949 la Institutul de patologie și igienă animală, Tudoriu, Ionică și alții au adus noi date cu privire la răspîndirea și caracterul infecției brucelice în Romînia.

În Bulgaria, boala la bovine a fost identificată în 1924 de Anghelov. În 1946, Kujumgiev, prin examene serologice, a găsit un procent de 8,07% bovine infectate.

Poarta de intrare. Germenii, pătrund în organism, în condiții naturale, de regulă pe cale digestivă, o dată cu alimentele. Experimental, infecția se poate realiza pe cale cutanată sau conjunctivală, dar acest mod de transmitere se realizează rar în condiţii naturale. Transmiterea prin actul sexual, de către taurii indemni, care trec, pasiv, germenii de la o vacă infectată la alta sănătoasă, este foarte puţin probabilă. Taurii infectaţi nu par a transmite infecţia ; într-adevăr, introducerea experimentală a culturilor de *Brucella* sau a materialului infectat în vagin la vaci sănătoase nu a produs — după unii cercetători — boala. Astfel Bigg (1953) constată că un taur cu prostatită brucelică a fecundat trei vaci care au fătat normal, deci ele nu s-au infectat. Harnach (1955) afirmă că insectele zburătoare (ţînţari, muşte) pot transmite mecanic infecţia. De asemenea Pritulin (1954) crede că unele căpuşe, *Dermacentor nutallia* şi *Hyalomma marginatum*, ar putea avea rolul de transmiţătoare ale infecţiei.

Patogenie, simptome şi leziuni. Germenii, ajunşi în aparatul digestiv, traversează mucoasa şi ajung în circulaţia limfatică, apoi sanguină de unde se fixează pe uter, dacă acesta este în gestaţie, sau, atunci cînd este în repaus, în diverse organe şi, mai ales, în ganglionii limfatici.

Din uter sau din circulaţia generală ei se pot fixa şi pe glanda mamară. Infecţia glandei mamare şi a laptelui apare, în general, după producerea avortului, şi anume în prima săptămînă.

Boala, la vacile sterpe, evoluează în general sub formă inaparentă. La vacile gestante, germenul se localizează în mucoasa uterină, pe placenta maternă şi fetală, cum şi în organismul fătului. Această localizare şi multiplicare pot fi însoţite de accese febrile asemănătoare celor care se produc în febra ondulantă la om. În marea practică, aceste accese, chiar dacă se produc, trec, de cele mai multe ori, neobservate.

Leziunile inflamatorii, care se produc ca o consecinţă a fixării germenilor pe învelitorile fetale, duc la dezlipirea placentei materne de placenta fetală şi la moartea fetusului. În organismul fetusului, *Brucella* se multiplică producînd o adevărată septicemie.

Fetusul mort este eliminat. Procesul de eliminare poate fi precedat de o scurgere vaginală şi o tumefacţie a vulvei, simptome care apar cîteva zile înainte de avort. Învelitorile, ca şi fetuşii morţi, prezintă leziuni inflamatorii şi necrotice. Cotiledoanele sînt acoperite de o secreţie fibrino-purulentă ; corionul este edemaţiat şi de culoare galbenă-gri. La fetus, se poate observa o inflamaţie hemoragică sau necrotică a mucoasei cheagului, hemoragii pe mucoasa intestinală, edemaţierea ţesutului conjunctiv subcutan. Cavităţile seroase (pleurală, peritoneală şi articulare) conţin un exudat abundent.

Avortul nu se produce în aceeaşi proporţie la toate animalele infectate. În general, pătrunderea brucelei abortigene în regiuni indemne, unde animalele sînt lipsite de orice rezistenţă specifică, provoacă avort în proporţie de 80%. În regiunile în care infecţia este enzootică, avorturile se produc numai la animalele tinere, în special la primipare. Acestea avortează de 1—3 ori şi pe urmă, deşi infectate, pot naşte la termen viţei normali. După diverse date statistice, 60% din vacile infectate avortează de două ori, iar 40% avortează o singură dată. Avortul nu se repetă de trei ori la acelaşi animal, decît într-un procent redus (1,5—5%).

Infecţia la bubaline

Bruceloza la bivoli a fost identificată, în ţara noastră de Marinov şi Oprescu (1937). Autorii constată că din 108 bivoliţe sacrificate în abator, 37,03% au dat reacţii de seroaglutinare pozitivă. In R.P. Bulgaria, Kujumgiev (1946), găseşte 4 seruri pozitive din 404 examinate; procentul de bivoli infectaţi a fost deci destul de redus — 0,99%.

Infecţia la bivoli evoluează la noi în ţară, aşa cum au arătat Marinov şi Oprescu (1937), Pop şi colaboratorii (1942), ca o maladie inaparentă. Animalele nu avortează, deşi dau reacţii serologice pozitive. În R.P. Bulgaria, în Egipt, infecţia evoluează însă cu simptome clinice (avort). Ivanov şi Kujmugiev, de exemplu, au izolat *Brucella* din fetuşii bivoliţelor sacrificate în abator, iar Nencoff a semnalat forme clinice la bivoliţe (avort).

Infecţia la porcine

Arie geografică. Infecţia la porc a fost semnalată în diverse ţări din Europa şi este foarte răspîndită pe continentul american. În ţara noastră, ea a fost identificată, în 1934, de Pop. În Bulgaria, Kujumgiev o descoperă în 1941. În Cehoslovacia, bruceloza porcină este foarte răspîndită şi după Niznansky (1954), procentul de morbiditate este de 59% în Moravia şi de 14% în Slovacia.

Etiologie. Infecţia este produsă de *Br. suis.* Huddleson, examinînd 55 de tulpini izolate de la porc, găseşte că toate aparţineau speciei *Br. suis.* Tudoriu şi Ionică (1955) au tipizat 50 de tulpini de *Brucella* provenind de la porcine bruceloase, şi toate, de asemenea, erau de *Br. suis.* Capacitatea tipului *Br. abortus* de a infecta suideele este admisă de unii cercetători şi contestată de alţii. Pop nu a observat un paralelism între infecţia la bovine şi porcine, constatînd, de exemplu, că porcii, care stăteau în vecinătatea grajdurilor cu vaci infectate, nu prezentau simptome de bruceloză şi scroafele pline nu avortau. La concluzii similare a ajuns şi Tudoriu (1953). Alţi observatori au putut însă constata, în alte ţări, că paralel cu avortul la vaci apărea în aceeaşi gospodărie şi avortul la scroafe.

Se poate afirma că infecţiile cu *Br. abortus,* la suidee, chiar dacă se produc, sînt puţin grave. Din contra, infecţiile cu tipul *suis* la porc au o deosebită gravitate, 70—80% din scroafele pline şi infectate putînd avorta.

Patogenie, simptome, leziuni. Animalele bolnave elimină germenul prin urină, scurgeri vaginale, lapte. Purceii care sug lapte infectat răspîndesc germenii, mai ales, prin vomismente. Bacteriile, eliminate prin aceste diverse căi, sînt introduse în organism, de cele mai multe ori, pe cale digestivă şi mai rar pe alte căi. Monta prin vieri infectaţi este la fel un mijloc curent de infecţie a scroafelor. Thompson (1932) a demonstrat, în condiţii experimentale, capacitatea vierilor de a transmite boala prin montă, la scroafe; din 20 de scroafe montate de asemenea vieri 6 au avortat. Vierii infectaţi, aşa cum a arătat acelaşi autor, conţin germenii în testicul, glandele seminale, epididim şi glandele lui Cowper, ceea ce explică regularitatea transmiterii infecţiei prin montă. Extinderea bolii într-o crescătorie se produce foarte repede. Scurt timp după introducerea unui animal infectat se produce infecţia întregului efectiv (seroreacţii pozitive).

Femelele pline şi infectate cu *Br. suis* avortează. Procentul de avorturi, la primipare, poate atinge cifra de 84% (Pop, 1934). Majoritatea avorturilor se

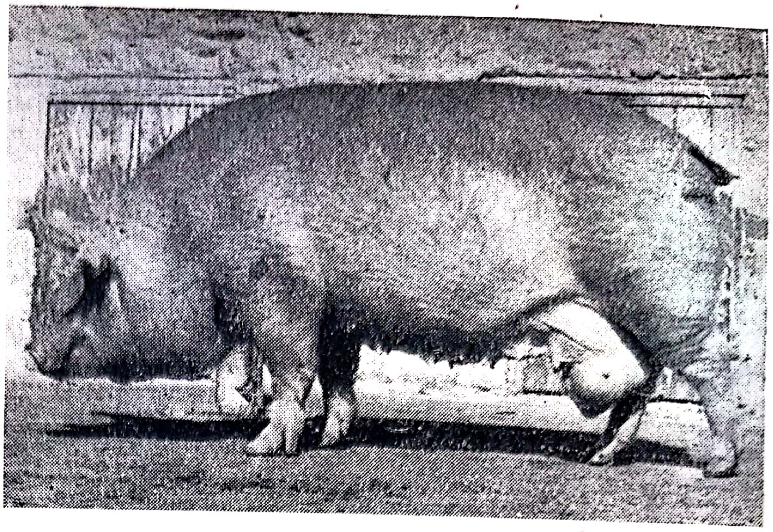


Fig. 42 — Mamită brucelică la scroafă (după Gogoaşă şi Cristescu)

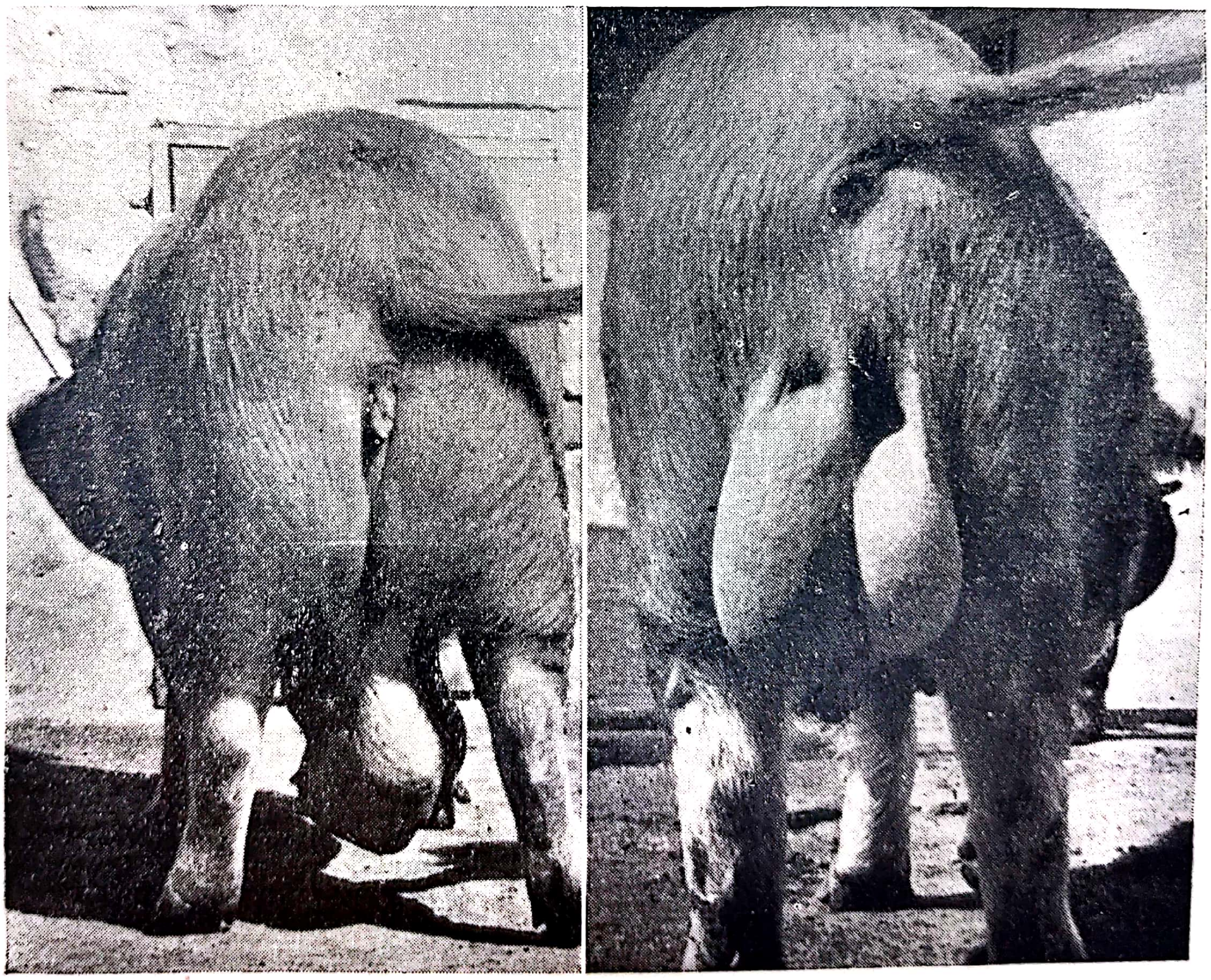


Fig. 43 — Bruceloză porcină
stînga — scroafă cu mamită brucelică; *dreapta* — vier cu orhită brucelică stîngă

produc între a 60-a și a 90-a zi de la fecundație, indiferent de timpul cînd s-a făcut infecția. Expulzarea purceilor este precedat de tulburări generale. Se constată într-adevăr, că 1—2 zile înainte de avort animalele nu mănîncă, au diaree, prezintă o scurgere vaginală galbenă, purulentă sau hemoragică, vulva este tumefiată, ugerul este mărit și conține colostru. Eliminarea fetușilor se face fără dureri, fiecare avorton fiind eliminat repede și acoperit cu învelitorile sale. Placenta este edemațiată și prezintă hemoragii și depozite galbene-gri. Lichidele fetale sînt tulburi și prezintă în suspensie flocoane de puroi. Fetușii prezintă edemul țesutului conjunctiv subcutan, hemoragii pe seroase, exudate abundente în cavitățile seroase, ficatul mărit și icteric. Bacteriile se pot izola din toate organele. Conținutul stomacal pare a fi cel mai bogat în germeni și însămînțările făcute din el sînt, de cele mai multe ori, pozitive, în timp ce din alte organe ele sînt destul de frecvent negative.

În general, o scroafă nu avortează decît o singură dată. Un prim avort a conferit deci animalului o stare de rezistență care protejează uterul și fetusul. Scroafele care au avortat o dată nasc ulterior, în mod normal, dacă primul avort nu le-a produs leziuni sterilizante.

Br. suis produce leziuni uterine și la animalele care nu sînt în gestație. Asemenea animale prezintă, în mucoasa uterină, formații nodulare dure, de culoare gălbuie, cu un conținut necrotic, purulent formații asemănătoare celor produse de bacilul tuberculozei. Scroafele infectate pot prezenta leziuni ovariene (noduli miliari sau chiști). *Brucella* poate fi găsită singură sau asociată cu diverși germeni piogeni în abcesele ce se constituie în diverse organe (splină, ganglioni, glanda mamară). Aceste abcese au, uneori, dimensiuni enorme (Gogoașă și Cristescu, 1954).

Bruceloza suideelor nu este o infecție numai a femelelor, așa cum este, de regulă, bruceloza taurinelor, ci ea afectează, în aceeași măsură, scroafele și vierii. Într-o crescătorie cercetată de Pop, vierii erau infectați în proporție de 80%. Leziunile la vieri sînt de obicei situate pe organele genitale — testicul, epididim, veziculele seminale — și constau din inflamații purulente sau necrotice, uneori cu tendință la calcificare. Infecția se localizează, adeseori, la unul din testiculi, de preferință la testiculul drept. Testiculul afectat prezintă, frecvent, dimensiuni enorme. Jivoin a observat la un vier, la care leziunea era localizată la un singur testicul, că testiculul normal cîntărea 280 g, iar cel infectat 2050 g. Tot Jivoin a găsit un testicul brucelic care cîntărea 3 600 g. In afară de leziunile organelor genitale, suideele bruceloase pot prezenta și alte leziuni. Astfel, frecvent, se găsesc în efectivele bruceloase animale cu artrite, spondilite etc. Artritele pot fi fibrinoase sau purulente și ele se soldează cu distrugerea cartilajelor și anchiloze. Abcesele brucelice se pot întîlni în țesuturile periarticulare și în diverse organe și țesuturi. Necroze osoase și exostoze sînt situate, adeseori, pe vertebre. In acest caz, procesul inflamator începe la nivelul discurilor intervertebrale și el se întinde și la epifizele vertebrale. Exostozele pot produce parezii și paralizii, cînd compresează trunchiul nervos respectiv.

Calcificarea leziunilor bruceloase la porc şi alte animale este încă discutată. Unii autori admit că leziunile bruceloase, spre deosebire de cele tuberculoase, nu se calcifică, alţii, din contra, că se pot calcifica.

La vierii infectaţi se observă reducerea sau pierderea periodică sau permanentă a capacităţii sexuale. Scroafele montate de un vier infectat pot rămîne, în consecinţă, nefecundate. În plus, ele se pot infecta.

Examenele bacteriologice au dovedit că germenul se izolează mai frecvent din veziculele seminale şi mai rar din testiculi, epididim, prostată sau glandele lui Cowper. El poate fi prezent în aceste organe înainte ca ele să prezinte leziuni.

Infecţia la cabaline

Cabalinele, care sînt în contact cu bovinele sau porcinele infectate, pot prezenta infecţii brucelice. Simptomele clinice sînt, de cele mai multe ori absente, sau se traduc prin afecţiuni purulente, necaracteristice. S-a izolat astfel *Brucella* din fistula grebănului, din chişti ai cefei sau grebănului etc. Germenii pătrund în ţesuturile respective prin traumatisme ale pielii. Procesul evoluează de regulă încet şi numai rareori acut. În acest din urmă caz regiunea este sensibilă şi edemaţiată. Chiştii se pot deschide spontan. Deschişi în scop terapeutic, ei lasă să se scurgă un lichid limpede, de culoare galbenă, care conţine flocoane de fibrină şi din care se poate izola *Brucella* în cultură pură. Bruceloza la cabaline nu se manifestă prin avort.

Serul cailor infectaţi este aglutinant şi fixator. Pop a examinat 42 de cai şi a găsit că serul de la 18 din ei aglutina *Br. abortus* la un titru ridicat (1/200—1/400).

Caii se infectează cu tipurile *abortus* şi *suis*. Huddleson a examinat 16 tulpini izolate de la cal şi a constatat că 11 aparţineau tipului *Br. abortus* şi 5 tipului *Br. suis*.

Infecţia la cabaline nu prezintă importanţă prin ea însăşi, ci prin aceea că poate constitui un izvor de infecţie pentru bovine sau porcine.

Infecţia la cîini şi pisici

Cîinele şi pisica oferă brucelei un teren asemănător celui al cabalinelor. Infecţia se manifestă rar prin avort sau procese piogene. De cele mai multe ori ea este inaparentă şi se descoperă prin reacţii serologice. Reacţii pozitive se obţin în proporţie importantă, la animalele care vin în contact cu material infecţios. Pop şi colaboratorii (1942) găsesc că 42,5% din cîinii gospodăriilor bruceloase dădeau reacţii serologice pozitive; serul unor asemenea animale aglutina *Brucella* pînă la titrul de 1/400. Cele trei tipuri de *Brucella* par egal de apte pentru a pătrunde în organismul acestor animale şi a da naştere la anticorpi aglutinanţi.

Infecţia la ovine

Arie geografică. Bruceloza oilor, identificată de comisia engleză în insula Malta, studiată apoi, în special, de Dubois (1910) şi de comisia constituită în U.R.S.S., în 1933—1937, şi condusă de Zdrodovski, este o boală care produce pagube însemnate oviculturii. După Zdrodovski, 1/6 din totalitatea oilor existente este infectată. Lafenêtre (1947) afirmă că anual, în Franţa, se pierd 100 000 de miei din cauza infecţiei brucelice. Bruceloza ovinelor este mai răspîndită în zonele situate în jurul paralelelor care limitează la sud şi la nord Marea Mediterană. Astfel, ea a fost identificată în Egipt, Tunis, Algeria, Maroc, Mexic, în sudul Statelor Unite, sudul Spaniei şi Franţei, Italia, Grecia, Turcia, regiunile de sud ale U.R.S.S., Israel, Iran, Irak, India, Indonezia, China. În afară de aceste zone, ea a mai fost găsită în Africa Centrală, în statele Americii de Sud. În statele Europei Centrale ea este practic absentă. Unele focare au fost identificate în Germania (Zerfass, 1955), Cehoslovacia (Niznanski, 1954) şi Romînia (Ionică, 1955).

Etiologie. Toate cele trei tipuri par a fi patogene pentru oaie, dar tipul *melitensis* produce în special infecţii aparente şi avorturi. Tipul *Br. suis* poate, după Pop, infecta oaia. Autorul observă că din 37 de oi care se găseau într-o gospodărie cu infecţie brucelică la scroafe, 24 conţineau aglutinine în serul sanguin, iar dintre acestea o parte au avortat fără să se fi putut preciza cauza avortului. Asemenea cazuri sînt sporadice. Practic, în ţara noastră *Br. abortus* şi *Br. suis* sînt nepatogene pentru oaie. Anchetele serologice Wynohradnyk, 1937, Tudoriu şi Jivoin 1949), ca şi observaţiile clinice, arată că ovinele din Romînia sînt indemne de bruceloză.

Receptivitate. Nu se constată diferenţe importante de receptivitate, în raport cu rasa. De asemenea, oile şi berbecii par egal de receptivi. Animalele tinere au în schimb o rezistenţă mai mare ca cele adulte. Tineretul ovin se comportă deci, din punct de vedere al sensibilităţii la infecţia brucelică, ca şi tineretul celorlalte specii animale, porc, bou.

Patogenie. În condiţii experimentale, infecţia la oaie poate fi realizată prin depunerea germenilor fie pe pielea lezată sau chiar intactă, fie pe mucoase, fie prin inoculări parenterale sau prin administrarea culturilor pe cale bucală. În acest din urmă caz, introducerea germenilor în reţea realizează mai frecvent infecţia decît introducerea lor în rumen. Ajunse pe o cale sau alta în ţesuturi, brucelele pare că se multiplică întîi la poarta de intrare, trec apoi în ganglionii limfatici regionali şi de aici în celelalte ţesuturi şi organe. Generalizarea se face pe cale limfatică şi sanguină; germenii se pot găsi şi izola din sînge în fazele de bacteriemie, care au caracter intermitent. Din sînge, germenii se localizează în diverse organe, de predilecţie în uterul gestant, mamelă, splină, ficat, măduva oaselor, testicul, seroasele articulare etc., unde produc leziuni de tip inflamator specific (granulomul brucelic) sau necrotic. În uterul gestant, germenul se localizează întîi în placentă şi de aici invadează embrionul, în ţesuturile căruia se multiplică. Dezvoltarea germenului în placentă produce leziuni care tulbură nutriţia embrionului, ceea ce are drept consecinţă debilitarea fătului. Acesta poate fi fătat la termen sau poate muri în uter înainte de termen, ca o consecinţă fie a leziunilor placentare, fie a acţiunii directe a germenului asupra fătului. În acest din urmă caz, se produce avortul, care poate fi sau nu precedat de unele tulburări obiective ale oii-mamă — edem vulvar, scurgeri vulvare etc.

Avortonii brucelici prezintă epanşamente pleurale şi peritoneale, şi un edem al ţesutului conjunctiv subcutan. Germenii se găsesc în conţinutul stomacal şi în organe.

Epizootologie. Sursele de infecţie sînt reprezentate prin animalele purtătoare şi eliminatoare de germeni. Acestea duc cu ele contagiul. Infecţia animalelor sănătoase se poate face fie prin contact direct cu animalele bolnave, fie prin ingerarea unor alimente infectate — brucelele rezistă cîteva luni pe furaje, în bălegar — fie prin montă — sperma berbecilor infectaţi poate conţine germenul — fie prin inhalaţia germenilor care se găsesc în aerul adăposturilor. În general, infecţia se răspîndeşte mai repede în grajd decît la păşune, ceea ce este în legătură cu o serie de factori şi în primul rînd aglomeraţia, alimentaţia etc. De asemenea, în sezoanele reci, infecţia se răspîndeşte mai rapid ca în cele calde.

Simptome. Bruceloza la oi evoluează, de cele mai multe ori, asimptomatic. Perioadele de generalizare şi bacteriemie nu se manifestă prin tulburări clinice perceptibile decît rareori şi atunci ele sînt ale unei toxiinfecţii — abatere, febră, anorexie, uneori constipaţie. Avortul, care este unul din semnele principale ale infecţiei, şi care, în general, face pe clinician să bănuiască existenţa infecţiei brucelice, se produce în efectivele infectate într-un procent de 10—15%. El apare de regulă între a 4-a şi a 5-a lună de gestaţie şi este relativ rar urmat de retenţia învelitorilor. Animalele care au avortat o dată nu mai avortează, de regulă, a doua oară, ceea ce nu înseamnă însă că ele nu mai conţin germenul. Ele îl pot conţine şi în acest caz, îl elimină în mediul ambiant prin lapte, urină, materii fecale, scurgeri vaginale etc. O mare parte din oile infectate fată la termen, însă produşii lor sînt slabi şi de obicei mor în primele săptămîni, ca o consecinţă a unor infecţii secundare, localizate mai cu seamă în pulmoni.

Avortul, şi într-o mai mică măsură fătarea, declanşează la oile infectate, fie redeşteptări ale infecţiei brucelice, care clinic se pot exprima foarte diferit — inflamaţii articulare, vaginale, bronhice, neurale (parezii sau chiar paralizii), oculare (cheratoconjunctivite), fie invazia florei condiţionat patogene, în diverse organe, în special în uter.

Infecţia la păsări

Păsările, care ingerează o dată cu alimentele cantităţi importante de germeni, pot face o infecţie care în general este inaparentă. Păsările cu infecţie inaparentă dau seroaglutinări pozitive. Pop şi colaboratorii (1942) au găsit că păsările din centre bruceloase se pot infecta în proporţie de 1,5%. Reacţii pozitive s-au obţinut la păsările din zona de extindere a tipului *melitensis*, cît şi la cele din zona tipului *abortus* şi tipului *suis*. Păsările infectate ar putea, după unii cercetători, avea un rol în răspîndirea brucelozelor.

Infecţia la iepuri şi cobai

Aceste specii se pot infecta spontan cu germeni din grupa *Brucella* şi în regiunile cu melitococie sau bruceloză bovină s-au putut observa şi la aceste specii avorturi. Viesler (1936), de exemplu, a semnalat avor-

Agentul etiologic şi principalele manifestări ale

Specia receptivă	Tipul obişnuit infectant	Principalele moduri de pătrundere în organism	Caracterul general al infecţiei
Omul	Br. melitensis Br. abortus Br. suis	Prin ingestie, prin piele, şi probabil pe cale respiratorie	Infecţie clinică
Porcul	Br. suis	Prin ingestie şi actul sexual	Infecţie clinică
Boul	Br. abortus	Prin ingestie	Infecţie subclinică
Bivolul	Br. abortus	Probabil, prin ingestie	Infecţie inaparentă sau subclinică
Oaia	Br. melitensis	Prin actul sexual şi ingestie	Infecţie clinică
Capra	Br. melitensis	Prin actul sexual şi ingestie	Infecţie clinică sau inaparentă
Calul	Br. abortus Br. suis	?	Infecţie inaparentă
Cîinele	Br. melitensis Br. suis Br. abortus	?	” ”
Pisica	?	?	” ”
Păsări	?	?	” ”
Iepuri şi cobai	Br. melitensis	?	” ”

Tabelul 31

infecţiei brucelice la om şi diverse specii animale

Simptomul principal al infecţiei	Hemoculturi în timpul evoluţiei clinice	Metode de diagnostic	Căile principale de eliminare a germenului	Seroaglutinarea este considerată pozitivă la titrul de
Febră, cefalee, mialgii, artralgii etc.	++	Examen clinic, serologic şi alergic	Urină şi fecale	1/75
Avort, orhite, leziuni osteoarticulare	+	Examen clinic, serologic alergic şi bacteriologic	Avortoni, învelitori, scurgeri fetale, urină, fecale, lapte	1/50—1/100
Avort şi rar orhite	—	Examen serologic şi bacteriologic la avortoni	Avortoni, învelitori şi scurgeri fetale, urină, lapte	1/25—1/50
—	—	Examen serologic	Urină şi fecale	
Avort, orhită	+	Examen clinic, serologic, alergic şi bacteriologic, la avortoni	Avortoni, învelitori scurgeri fetale, urină, lapte	
Avort	+	Examen serologic şi bacteriologic la avortoni	Lapte, avortoni şi învelitori	
Afecţiuni purulente	—	Examen serologic	Material purulent	1/100
—	—	Examen serologic	?	1/50
—	—	Examen serologic	?	
—	—	Examen serologic	?	
—	—	Examen serologic	?	

turile brucelice la iepurii sălbatici, care consumau resturile de sfeclă ce proveneau dintr-un grajd cu vaci bruceloase. Prima tulpină a fost izolată de Witte (1941) în Germania şi a doua de Roux şi Bouvier (1946) în Elveţia. Infecţia la iepurii sălbatici, s-a răspîndit mult în ultimul timp, în Europa, şi ea poate avea un rol important în epizootologia şi epidemiologia acestei boli. Christiansen a izolat în 1951—1952, din testiculii a doi iepuri sălbatici, două tulpini de *Brucella,* care s-au dovedit a fi *Br. suis.* Iepurii au fost capturaţi dintr-o regiune din Danemarca, în care bruceloza la porcine este foarte răspîndită. Ei au prezentat la autopsie orhită şi epididimită proliferativă şi necrotică. Infecţii la iepurii sălbatici au mai fost diagnosticate în Elveţia (Bouvier şi col., 1954), în Franţa (Jacotot şi col., 1954), în Cehoslovacia (Niznansky, 1954), Danemarca (Thomsen, 1955). Niznansky (1956) a identificat infecţia la 47 de iepuri capturaţi din cinci regiuni din Cehoslovacia; aceste animale prezentau focare necrotice în splină, ficat, pulmon etc. Leziunile uterine — de piometrită — erau de asemenea frecvente. Din cele 16 tulpini izolate de autor, 14 erau de tip *suis,* varietate americană. După Bendtsen şi colaboratorii (1954) şi Bendtsen şi colaboratorii (1956), iepurii sălbatici ar putea fi la originea unor enzootii brucelice porcine. La noi în ţară infecţia a fost identificată de Tudoriu şi colaboratorii (lucrare inedită).

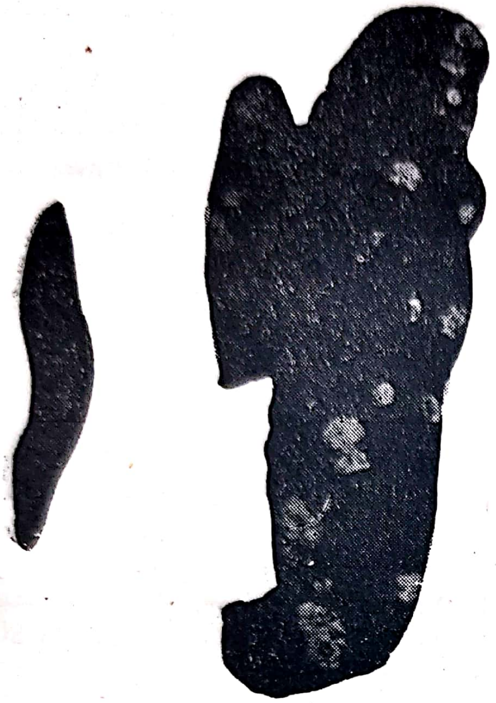


Fig. 44 — Focare brucelice în splina unui iepure de cîmp (după Niznansky şi col.)

dreapta — splina cu focare brucelice;
stînga — splina normală de iepure de cîmp

Iepurii ar putea transmite infecţia de asemenea la om şi la alte specii animale decît porcul.

Infecţia la şobolani

Şobolanii sălbatici pot fi purtători de brucele. Karkadinowsky (1936), a izolat o tulpină de *Br. abortus,* iar Tudoriu una de *Br. suis,* de la şobolanii sălbatici.

Diagnosticul brucelozei

Examenul clinic şi anatomo-patologic se asociază, totdeauna, în vederea stabilirii diagnosticului, cu examenul bacteriologic şi serologic, deoarece aspectul clinic atît al infecţiei umane, cît şi al celei animale este, de cele mai multe ori, necaracteristic.

Într-adevăr, atît la suidee, cît şi la bovidee, avorturile brucelice, ca şi alte tulburări datorite acestei infecţii, nu pot fi totdeauna cu precizie diferenţiate de avorturile şi tulburările provocate de alte cauze. Caracterul contagios pe care îl îmbracă avorturile brucelice, leziunile învelitorilor ca și ale fetușilor pot da, de multe ori, indicații prețioase, dar, cu toate acestea, totdeauna este necesar un examen de laborator. În ceea ce privește depistarea animalelor, în stadiu de infecție inaparentă, ea nu se poate face decît prin metode serologice și alergice.

Diagnosticul serologic

Pentru diagnosticul serologic al brucelozei s-au folosit și recomandat toate metodele serologice cunoscute.

Seroaglutinarea a fost recomandată, ca metodă de diagnostic a brucelozei, de către Wright și colaboratorii (1897) și ea mai este cunoscută, pentru acest motiv, și sub numele de reacția Wright. Este reacția cea mai comodă și cea mai ușor de interpretat. Valoarea ei de diagnostic este condiționată de felul antigenului folosit și de calitățile serului suspect de cercetat.

Antigenul — suspensia bacteriană — se prepară, de regulă, dintr-o singură tulpină, care trebuie să fie sensibilă față de aglutinele specifice și să nu aglutineze spontan. Se poate folosi o tulpină indigenă selecționată sau o tulpină standard internațională, cum este de exemplu, tulpina Weybridge 99. În vederea obținerii antigenului, tulpina aleasă se cultivă pe agar, în plăci. Cultura, după o incubație de 2—3 zile, la 37°C, se spală cu ser fiziologic, fenolat 0,5% și suspensia astfel obținută se spală de două ori, prin centrifugare. Depozitul se diluează în anumite proporții. Astfel, în Romînia, el se dilua în proporție de 8,5 g de bacterii umede pentru 100 ml de ser fiziologic, fenolat 0,5%, sub această formă, suspensia se conservă, la rece, cîteva luni. În vederea executării seroaglutinării, suspensia densă se dilua cu ser fiziologic, fenolat 0,5%, în proporție de 1/150. Această din urmă diluție a antigenului nu se putea întrebuința decît în ziua în care a fost făcută. Acest mod de preparare și diluare, care a fost folosit mulți ani în țara noastră, nu a dat totdeauna cele mai bune rezultate, pentru că sensibilitatea sa față de anticorpi varia, cum este lesne de înțeles de la o serie la alta. Pentru a remedia acest incovenient, observat la noi, ca și în alte țări, s-a introdus metoda de diluare a antigenului brut în raport cu un ser standard. În acest caz, antigenul, o suspensie densă oarecare, se diluează în proporția în care el este aglutinat de serul standard, la diluția fixată pentru acest ser. Astfel, dacă serul standard folosit aglutinează antigenul, la diluția de 1/480, cu + +, atunci se fac, prin tatonare, mai multe diluții din suspensia de cercetat, și prin reacția de aglutinare cu serul standard se precizează care este diluția care dă o aglutinare de ++ la diluția de 1/480, această diluție fiind folosită pentru decelarea anticorpilor în serurile de cercetat. Procedîndu-se în acest fel se obțin antigeni mai uniformi, care dau, în consecință, rezultate mai constante în diagnosticul brucelozei la animale și om. Serul standard se păstrează sub formă uscată. Se pot folosi seruri standard naționale sau internaționale. Pentru uniformizarea cercetărilor și a rezultatelor obținute în clinică, pentru a putea compara între ele rezultatele obținute în diverse regiuni de pe glob și a le da o interpretare justă, este bine să se folosească un ser standard internaţional. Pornind de la asemenea considerente, în 1952 Organizaţia mondială de sănătate a adoptat, ca etalon internaţional, serul standard britanic, stabilindu-se că o unitate de ser corespunde la 0,91 mg de ser uscat (Stableforth, 1954).

Fiecare serie de antigen, indiferent de criteriile folosite pentru diluarea sa, trebuie controlată, înainte de a fi folosită în reacţiile de diagnostic.

Controlul constă din trei probe esenţiale.

1. Proba fierberii : suspensia nu trebuie să aglutineze prin fierbere.

2. Proba aglutinării cu tripaflavină : suspensia nu trebuie să aglutineze într-o soluţie 1/1 000 de tripaflavină. Această probă se face în tuburi. Citirea se face după 24 de ore la 37°C. Metoda aglutinării rapide de pe lamă, cu soluţii de tripaflavină, este mai puţin precisă, şi serveşte ca reacţie de orientare.

3. Proba aglutinării cu ser S şi ser R : suspensia trebuie să aglutineze la titrul maxim al serului S folosit, iar cu serul R trebuie să aglutineze la un titru mai mic ca titrul maxim al acestui ser, faţă de antigenul R. Un ser R Gherghiţa, de exemplu, aglutina antigenul R la titrul de 1/480 şi antigenul S la titrul de 1/120. Antigenul S, în acest caz, era bun şi putea fi folosit în reacţie.

Concentraţia sărurilor în antigenul folosit influenţează sensibilitatea sa faţă de anticorpi. În regulă generală, bacteriile sînt puse în suspensie în apă fiziologică care conţine 0,85 clorură de sodiu. Trilenko (1954) afirmă că pentru diagnosticul brucelozei la oi este bine să se folosească un antigen cu o concentraţie mai mare de săruri şi anume 5—20%, deoarece acesta este mai sensibil faţă de aglutininile prezente în serul oilor bruceloase. Concentraţia optimă de clorură de sodiu este după autor, 10%.

Serul animalelor suspecte, în vederea examenului serologic, se recoltează din vena jugulară, în recipiente sterile şi în condiţii de perfectă asepsie. Serul de examinat nu trebuie să fie hemolizat sau infectat ; el trebuie să fie perfect limpede. Reacţia este bine să se execute după 24—48 de ore de la recoltarea sîngelui. Recoltarea sîngelui de la animalele (femele) care au avortat nu se face imediat după avort, ci după ce trece o perioadă oarecare de timp. Astfel, la vaci, sîngele se recoltează în medie, după 3 săptămîni după avort, iar la oi, aşa cum recomandă Dubois şi Sollier (1932), după 9—15 zile după avort. La oi, în primele 9 zile după avort, reacţia este constant negativă.

Executarea reacţiei. Metoda lentă. Pentru fiecare probă de ser se folosesc cel puţin trei tuburi, în care serul este diluat, în antigenul respectiv la diluţiile de 1/25, 1/50 şi 1/100. Reacţia se citeşte după 3 ore la 37°C şi, definitiv, după 24 de ore la temperatura camerei. Citirea se face cu ochiul liber şi, eventual, cu aglutinoscopul. Reacţia este pozitivă şi se notează cu + + + +, cînd lichidul este total limpede, iar germenii constituie pe fundul tubului un depozit neomogenizabil. Reacţia se notează cu + + +, cînd germenii sînt sedimentaţi în proporţie de 75% ; cu + +, cînd sînt sedimentaţi în proporţie de 50%, cu +, cînd sînt sedimentaţi în proporţie de 25% şi cu —, cînd germenii au rămas în suspensie, în aceeaşi proporţie ca şi în tubul-martor.

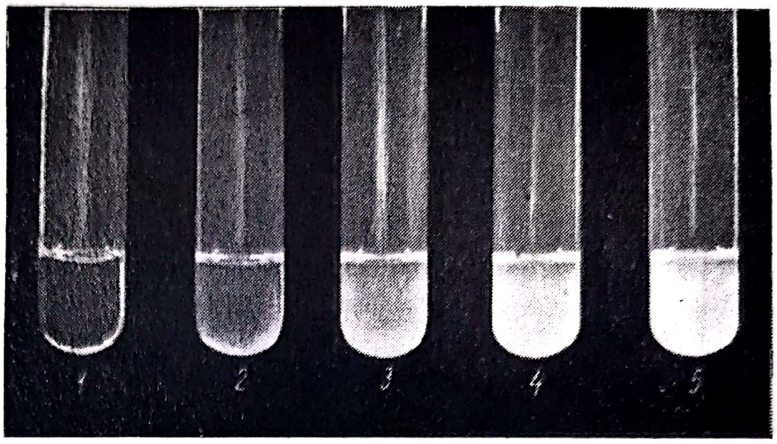


Fig. 45 — Tuburi standard pentru interpretarea reacţiei de aglutinare în bruceloză

1 — aglutinare 100%; 2 — aglutinare 75%; 3 — aglutinare 50%; 4 — aglutinare 25%; 5 — fără aglutinare

Metoda rapidă. Pentru orientare se poate practica şi proba rapidă de diagnostic, după metoda Huddleson-Caitmazova. În acest scop, se amestecă, pe o lamă, diverse cantităţi de ser, şi anume : 0,08, 0,04, 0,02 şi 0,01 cu o doză constantă de 0,03 ml, de suspensie bacteriană. Ilian (1952) modifică dozele de ser diluat 1/10 şi în a treia ser diluat 1/20. Lama se încălzeşte uşor în jurul becului de gaz şi citirea se face după 5 minute.

Antigenul folosit în această reacţie este constituit dintr-o suspensie de germeni într-o soluţie salină 12% şi fenolată 0,5% şi care conţine în plus violet de genţiana, în proporţie de 1/50 000 şi verde brillant în proporţie de 1/25 000. Concentraţia germenilor în suspensie este de 10 miliarde pe 1 ml. Substanţele colorante fac uşor vizibilă reacţia.

Valoarea de diagnostic a seroaglutinării. *Reacţii nespecifice.* Titrul aglutinant al serurilor, provenind de la animale infectate, este foarte variabil. Într-adevăr, variaţii importante, din acest punct de vedere, se constată nu numai la diferite animale, dar şi la acelaşi animal, de la o sîngerare la alta. În general, un titru ridicat corespunde unei reactivări a infecţiei. În acest sens, se constată că oamenii în cursul perioadelor febrile, animalele la 3—4 săptămîni după avort, precum şi în toate cazurile care prezintă leziuni organice întinse, în care germenii se multiplică, au un ser care aglutinează la un titru ridicat 1/400—1/2 000. Vacile, care elimină germeni prin lapte, au, la fel, un titru aglutinant de cel puţin 1/200 ; din contra, atunci cînd infecţia nu se manifestă prin simptome clinice, titrul este scăzut, şi cu atît mai mic, cu cît ne îndepărtăm mai mult de ultima manifestare clinică a infecţiei. Vacile infectate, dar care nu elimină germeni prin lapte, au în general un titru de 1/100 sau mai puţin. În perioadele de acalmie a infecţiei, titrul aglutinant este scăzut, dar el se menţine la acest titru uneori, un timp îndelungat, chiar dacă nu apare nici o manifestare clinică. S-a constatat de exemplu, că serul unor oameni care au suferit de febră ondulantă mai poate aglutina *Brucella* după 3—7 şi chiar 10 ani de la ultima manifestare clinică. Titrul minim care indică o infecţie brucelică este considerat de majoritatea autorilor 1/50—1/100. În general se admite pentru bovine şi cabaline titrul de 1/100, iar pentru porcine şi celelalte animale 1/50. Astfel, în laboratoarele veterinare din R.P.R., pentru bovine, o reacție este considerată ca dubioasă cînd titrul aglutinant al serului este de 1/50 și pozitivă acțiunei cînd titrul aglutinant al serului este de 1/100 sau mai mult; pentru porcine, un titru aglutinant de 1/25 înseamnă o reacție dubioasă, iar un titru de 1/50 sau mai mult, o reacție pozitivă.

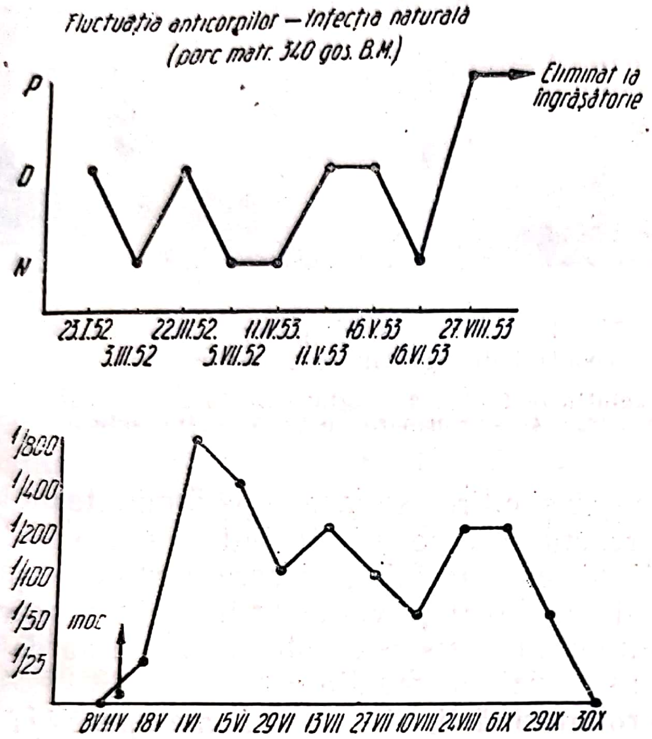


Fig. 46 — **Fluctuația anticorpilor la porci bolnavi de bruceloză (după Bugeac, 1956)**

sus — **fluctuația anticorpilor în infecția naturală;** *jos* — **fluctuația anticorpilor în infecția experimentală**

Valoarea de diagnostic a seroaglutinării este însemnată, dar nu absolută, în sensul că nu toți indivizii infectați conțin suficiente aglutinine pentru a putea fi descoperite prin seroaglutinare și foarte probabil, nu absolut toate reacțiile pozitive corespund unei infecții brucelice. Astfel, în prima fază a infecției, reacția este negativă, aglutininele neapărînd decît după un timp oarecare de contact între germeni și organism (de la 5 zile la cîteva săptămîni). Acest timp este cu atît mai scurt cu cît germenul este mai virulent, infecția mai masivă și rezistența animalului mai redusă. La vacile gestante, aglutinele, dispar de regulă în momentul avortului, dar ele apar 2—3 săptămîni după avort. Din acest motiv, în caz de avort, probele de sînge se vor recolta după 15—25 de zile de la expulzarea fătului. Fluctuații, privind conținutul serului sanguin în anticorpi aglutinați, se observă frecvent, ceea ce îngreuiază mult depistarea animalelor infectate, căci dacă o reacție pozitivă corespunde, de regulă, unei infecții, o reacție negativă nu exclude totdeauna infecția.

Anticorpii blocanți. Metode pentru decelarea lor. Reacții de aglutinare negative, cu ser provenind de la organisme infectate, pot fi datorite și așa-numiților *anticorpi blocanți, incompleți* sau *univalenți,* anticorpi care se cuplează cu antigenul (corpul bacterian), dar nu produc aglutinarea, apărînd așa-numitul fenomen de zonă. Acești anticorpi blocanți nu apar totuși decît în organismele infectate și identificarea lor permite diagnosticul bolii; pentru a-i pune în evidență și a descoperi astfel infecția, se recurge la două metode, și anume:

1. *Metoda* sau *testul Combus* sau *testul antiglobulinic,* care constă din tratarea suspensiilor care au fost în contact cu serul suspect printr-un ser cu anticorpi activi față de proteinele specifice serului suspect; astfel, suspensiile bacteriene care au fost în contact cu un ser uman care nu le-a agluti-

nat se tratează, după centrifugarea şi spălarea lor, cu un ser antiuman, preparat pe iepure ; în cazul cînd în serul uman au existat anticorpi blocanţi, aceştia s-au fixat pe corpii bacterieni ; anticorpii antiproteinici din serul de iepure se fixează şi ei pe corpul bacterian, fiind atraşi de antigenii respectivi ; bacteria se încarcă astfel cu două straturi de anticorpi şi, în aceste condiţii, ea îşi pierde stabilitatea şi se aglutinează ; acest fenomen nu are loc cînd în serul uman nu au existat nici un fel de anticorpi antibrucelici, cînd deci organismul este indemn de infecţia brucelică.

2. *Metoda tratării suspensiilor,* care au fost în contact cu un ser suspect, cu un *ser antibrucelic sigur pozitiv.* În aceste condiţii, aglutinarea prin serul pozitiv nu se produce în cazul cînd în serul suspect au existat anticorpi blocanţi. Aceştia, fixîndu-se pe celula bacteriană, blochează aglutinogenii şi împiedică astfel acţiunea aglutininelor din serul pozitiv utilizat în a doua parte a reacţiei. Din contra, aglutinarea are loc numai atunci cînd în serul suspect nu au existat anticorpi blocanţi. Pentru executarea acestei probe, suspensiile care au stat în contact cu serul suspect un timp normal se spală prin centrifugare şi apoi se tratează cu serul pozitiv ca pentru o aglutinare obişnuită (Clapp 1953, Ferris şi col., 1953, Fey şi Bürki, 1953). Fenomenul de zonă poate să dispară, după Renoux (1954) şi alţi cercetători, şi prin încălzirea serului la 56°C sau prin folosirea unui antigen bogat în electroliţi — 5% clorură de sodiu.

Se pot întîlni, însă, atît la om cît şi la animale, cazuri cînd o reacţie pozitivă nu corespunde unei infecţii. Există deci şi reacţii nespecifice de acest fel. Astfel, la om, serul bolnavilor de tifos exantematic, tuberculoză, tifos, paratifos etc. poate aglutina tulpinile de *Brucella,* dînd astfel o falsificare a diagnosticului. La animale, Paşov (1949) constată, de exemplu, că serul porcinelor infectate cu *Past. tularensis* poate aglutina suspensiile de brucelă, producîndu-se şi în acest caz o reacţie nespecifică, foarte explicabilă de altfel, căci se ştie că *Past. tularensis* şi *Brucella* au antigeni comuni. Această constatare a făcut pe unii autori (Topley şi Wilson) să încadreze agentul tularemiei în genul *Brucella,* sub numele de *Br. tularensis.*

Reacţia de hemaglutinare. În scopul simplificării operaţiilor de diagnostic în infecţia bruceloasă s-a folosit şi reacţia de hemaglutinare, care se poate executa chiar în grajd, de către tehnicieni. Ea este o reacţie de orientare şi, în crescătoriile infectate, trebuie completată cu examinarea probelor de sînge la laborator. În crescătoriile indemne, unii autori o recomandă pentru controlul periodic al efectivelor.

Tehnica reacţiei. Pe o lamă curată se pune o picătură de antigen peste care se adaugă o picătură de sînge ; cele două lichide se amestecă ; în cazul reacţiei pozitive, germenii sînt aglutinaţi şi fenomenul este mai bine vizibil la periferia picăturii. În cazurile pozitive aglutinarea se produce în cîteva minute. Antigenul folosit trebuie să fie dens, să conţină un anticoagulant, de exemplu citrat de sodiu 2% şi eventual, un colorant, cristal violet.

Lactoaglutinarea. Zammit a propus lactoaglutinarea ca o metodă care ar permite să se descopere animalele care elimină germeni prin lapte.

Autorul execută reacţia în modul următor: pe o placă de sticlă amestecă o suspensie densă de germeni, cu lapte suspect diluat 1/20—1/40; amestecul este aspirat în cîteva tuburi capilare pe care le închide la flacără, la ambele capete, şi apoi le fixează în poziţie verticală, într-un strat de nisip. Citirea se face după 2 ore.

Reacţia de fixare a complementului (R.F.C.). Fixarea complementului se foloseşte în diagnosticul brucelozei, paralel cu seroaglutinarea, căci, aşa cum s-a arătat de diverşi cercetători, reacţiile se completează una pe alta. Într-adevăr, sînt seruri care conţin anticorpi fixatori, dar nu conţin aglutinine şi invers. La vacile infectate de mult timp, aglutininele adeseori dispar din sînge, deşi sensibilizatricea este prezentă. Leluţiu şi Tudoriu (1949), de exemplu, examinînd paralel, prin seroaglutinare şi R.F.C., 1 017 probe de sînge provenind de la bovine infectate, obţin rezultate concordante în 792 de probe (77,87%) şi rezultate diferite la 226 de probe (22,12%). Cele mai multe din aceste din urmă probe (164) erau pozitive pentru reacţia de seroaglutinare, dar negative la fixarea complementului. Restul probelor au fost fie negative la seroaglutinare şi pozitive la fixarea de complement, fie dubioase printr-una din reacţii şi pozitive la cealaltă. La ovine reacţia de fixare a complementului este superioară reacţiei de seroaglutinare, care la această specie dă rezultate inconstante.

Antigenul folosit pentru seroaglutinare poate fi întrebuinţat şi la R.F.C. Serul suspect se poate folosi ca atare sau inactivat; se pare că se obţin procente mai mari de reacţii pozitive cu serul neîncălzit. Serul trebuie să fie recoltat de la animale dimineaţa, înainte de a primi raţia de hrană, deoarece serul provenind de la animale care şi-au consumat raţia poate da reacţii nespecifice.

Doza de ser este de 0,1 ml şi doza de antigen, 0,5 ml.

Se admite că reacţiile pozitive date de 0,1 ml de ser inactivat corespund unei infecţii brucelice. Există însă şi un procent variabil de reacţii nespecifice.

Reacţia de conglutinare. Se poate folosi pentru diagnosticul serologic al brucelozei la taurine (Dimitrieva-Katieeva), precum şi la om şi porcine (Tudoriu).

Elementele necesare executării reacţiei (după Tudoriu)

1. Serul de cercetat, inactivat 30—45 de minute la temperatura de 56°C.
2. Complementul (alexină): ser normal de cal cu proprietăţi alexice accentuate, titrat în prealabil şi conservat.
3. Antigenul brucelic: suspensie dintr-o cultură de 5 zile pe geloză, spălată, centrifugată şi apoi resuspendată în ser fiziologic, fenolat 0,5%.
4. Conglutinina: ser normal de bou, cu proprietăţi conglutinante puternice, titrat, conservat şi inactivat 10 minute la 54°C înainte de executarea reacţiei.
5. Suspensie de globule roşii de berbec 0,5% în ser fiziologic.

Executarea reacției

Proba	*Martorul probei de ser*
Ser de cercetat 0,01 ml	0,02 ml
Ser fiziologic 0,49 ml	0,98 ml
Inactivare 30 de minute la baia de 56°C	
Antigen titrat: 0,5 ml	—
Complement titrat 0,5 ml	0,5 ml
Se ține la temperatura camerei 15 minute, pentru fixarea complementului	
Conglutinină titrată 0,5 ml	0,5 ml
Suspensie 0,5% de globule roșii 0,5 ml	0,5 ml
Se ține la baia de 37°C 2 ore	

Citirea se face la 1 oră după scoaterea din baie și se păstrează la temperatura camerei

Martorii elementelor

	Martor conglutinină	*Martor antigen*	*Martor globule roșii*
Ser fiziologic	1 ml	—	2 ml
Antigen	—	1 ml	—
Complement	0,5 ml	0,5 ml	—
Conglutinină	0,5 ml	0,5 ml	—
Globule roșii	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Interpretarea reacției:

1. Proba este pozitivă cînd nu se produce conglutinarea și globulele roșii sînt sedimentate pe fundul tubului sub forma unui inel roșu compact, cu margini nete și ușor omogenizabil. Acest rezultat se explică astfel: anticorpii din ser s-au cuplat cu antigenul și complexul a fixat alexina; în aceste condiții, conglutinina, fixată pe globulele roșii, nu a putut provoca aglutinarea acestora, în absența alexinei.

2. Proba este dubioasă cînd se produce o conglutinare parțială, adică globulele roșii sînt depuse pe fundul tubului în strat subțire sau compact, cu margini neregulate, de același aspect cu antigenul aglutinat în reacția de seroaglutinare. Prin agitare globulele roșii conglutinate se ridică în grămezi sau libere.

3. Proba este negativă cînd neexistînd anticorpi în ser, nu se constituie complexul antigen-anticorp brucelic, alexina rămîne liberă și intervine provocînd conglutinarea. Globulele roșii, în acest caz, sînt depuse pe fundul tubului și prin agitare se ridică în lichidul clar grămezi de globule roșii conglutinate, suspensia de globule roșii nemairefăcîndu-se.

Martorii elementelor folosite în reacție sînt:

a) Martorul pentru conglutinină.
b) Martorul pentru complement.
Amîndoi trebuie să prezinte fenomenul de conglutinare.
c) Martorul pentru suspensia de globule roșii care nu trebuie să fie conglutinate.

În diagnosticul brucelozei, reacția de conglutinare dă rezultate prețioase. Tudoriu, examinînd prin seroaglutinare, fixare de complement și conglutinare, 304 probe de sînge de taurine a obţinut rezultatele care sînt rezumate în tabelul 32.

Tabelul 32

Rezultatele date de diversele reacţii de diagnostic al brucelozei la bovine

	Pozitive	Dubioase	Negative
Reacţia de fixare a complementului ..	133 (43,7%)	21 (6,9%)	150 (49,3%)
Reacţia de conglutinare	89 (29,2%)	48 (15,7%)	167 (54,9%)
Reacţia de seroaglutinare lentă	86 (28,2%)	74 (24,3%)	144 (47,3%)

Reiese din aceste date că reacţia de conglutinare este mai puţin sensibilă decît seroaglutinarea lentă şi fixarea complementului, dar are avantajul, faţă de reacţia de seroaglutinare lentă, că dă rezultate mai specifice, iar faţă de fixarea complementului că apare mai repede după infecţie, permiţînd un diagnostic mai precoce. Dezavantajul metodei constă, în special, în dificila ei executare şi numărul mare de elemente ce intră în reacţie.

Reacţia de floculare a complexului antigen-hidroxid de aluminiu, imaginată de Tudoriu (1952), poate fi de asemenea folosită în diagnosticul brucelozei. Principial, reacţia se sprijină pe constatarea că serul sanguin normal întîrzie flocularea complexului antigen-hidroxid de aluminiu, dar această întîrziere nu se manifestă atunci cînd serul conţine anticorpi brucelici. Cu alte cuvinte, un ser normal menţine stabilitatea complexului iar unul brucelos nu o menţine, din cauza cuplării anticorpilor cu antigenul brucelic şi deranjării, în urma acestei cuplări a echilibrului coloidal al întregului complex: ser-antigen-hidroxid de aluminiu. Reacţia este deci pozitivă cînd amestecul antigen-hidroxid de aluminiu-ser suspect floculează ca şi într-un tub-martor, în care serul suspect este înlocuit cu ser fiziologic; reacţia este negativă cînd flocularea complexului întîrzie în raport cu aceea a tubului-martor.

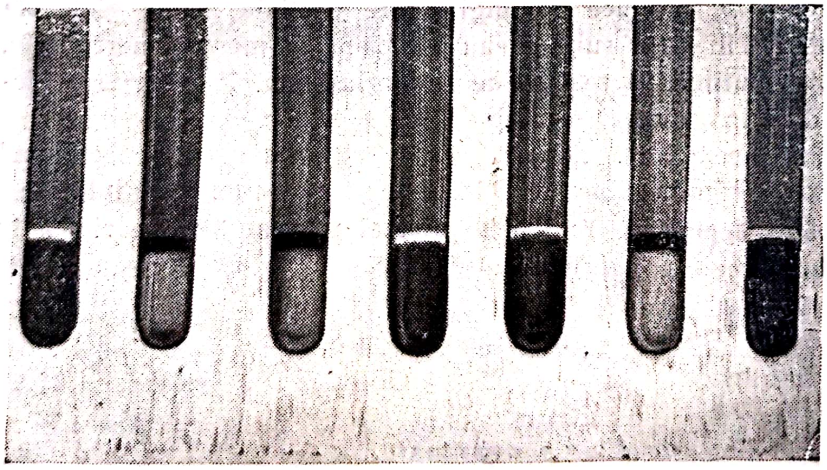


Fig. 47 — Proba inelară (după Schindler)

Reacţie pozitivă în tuburile 2,3 şi 6; reacţie negativă în tuburile 1,4,5 şi 7 (de la stînga spre dreapta)

Reacția inelară este o metodă de diagnostic imaginată de Fleischhauer (1937) și care se poate aplica cu rezultate satisfăcătoare (Ţaga și col., 1950, Kocerghin, 1953 și alții).

Tehnica reacției: la 1 ml de lapte se adaugă o picătură de antigen brucelic colorat cu hematoxilină sau alt colorant. Se agită tubul și amestecul este lăsat 2—6 ore la termostat sau chiar la temperatura camerei. În acest timp, smîntîna din lapte se adună la suprafață și în cazul unei reacții pozitive se prezintă ca un inel colorat în albastru-violet, din cauză că antigenul colorat este aglutinat și antrenat la suprafață o dată cu grăsimea.

Într-o reacție negativă, inelul de smîntînă este alb sau ușor gălbui, iar laptele albastru-violet, din cauză că bacteriile colorate nefiind aglutinate n-au putut fi antrenate la suprafață de particulele de grăsime și au rămas în lapte, colorîndu-l.

Reacția este destul de sensibilă; este simplă și poate fi executată de medici sau tehnicieni pe teren. Unele legislații prevăd că o crescătorie de vaci este indemnă de bruceloză dacă animalele au dat trei reacții inelare negative în decurs de 4 luni și o singură seroaglutinare negativă făcută 3—6 luni după ultima probă inelară. Reacția inelară se poate aplica și la laptele de oaie. Trilenko (1953) recomandă ca laptele de oaie să fie diluat cu un volum egal dintr-o soluție 10—20% clorură de sodiu, deoarece soluțiile hipertonice permit obținerea unor rezultate mai bune decît cu lapte integral.

Reacția se poate executa și cu ser sanguin (Fleischhauer-Canic, 1939) În acest scop, se amestecă 0,2 — 0,5 ml de ser cu 0,5 — 0,8 ml de lapte formolat 1% și cu o picătură de antigen colorat.

Tehnica preparării antigenului colorat. Tulpina aleasă și în faza S se cultivă pe agar 3%, glicerinat 2% și glucozat 1%. Culturile de 2—3 zile, după eliminarea lichidului de condensație, se spală de două ori cu apă de robinet fenolată 0,5%. Depozitul de centrifugare se ia cu 4—6 volume de soluție hematoxilină ferică și amestecul se încălzește 5 minute la 70°C. După un contact de 2—3 ore, se centrifughează; depozitul se spală de două ori cu apă de robinet acidulată cu ClH n/1. Depozitul de la ultima centrifugare se ia în 10 volume de apă fiziologică glicerinată 25% și fenolată 0,5%, la pH=6,0.

Colorarea antigenului se poate face, după Murnay (1942), și cu soluția Hermann (1937), care se prepară astfel: se amestecă 100 ml de soluție alcoolică (alcool 96°) 1% de hematoxilină cu 10 ml de soluție apoasă 10% de sulfat de sodiu și aluminiu și cu 30 ml de glicerină. Peste acest amestec se adaugă 0,77 g de iodură de sodiu dizolvată în 2 ml de apă distilată. Bacteriile se amestecă în această soluție și se țin în termostat cîteva zile; se spală apoi prin centrifugare, cu ser fiziologic pînă ce acesta rămîne incolor.

Un alt colorant ce se poate folosi este 2—3—5 trifeniltetrasolium clorid. În vederea obținerii suspensiei colorate el se adaugă în proporție de 0,70 g la 1 000 ml de suspensie bacteriană (suspensia conține 3,5 g de corpi bacterieni umezi la 100 ml). Amestecul este lăsat 2 ore la 37°C, agitîndu-se în acest timp de cîteva ori; se adaugă mertiolat de sodiu în proporție de 1/5 000; după o păstrare de încă 2 zile la 37°C, se adaugă glicerină neutră în proporție de 1%. Suspensia are o culoare roșie-vișinie și poate fi folosită timp de 1 an.

Determinarea indicelui bacteriotropinelor din serul suspect este folosită în diagnosticul brucelozei umane. Pentru determinarea indicelui se amestecă:

0,1 ml de ser suspect, inactivat 30 de minute la 56°C;

0,2 ml de suspensie bacteriană, cultură de 48 de ore dintr-un tub de agar în 15 ml de apă fiziologică;

0,1 ml de suspensie de globule albe de la un om sănătos.

După 15 minute la 37°C se fac frotiuri, se usucă şi se colorează cu o soluţie compusă din:

0,5 g de albastru de toluidină;
10 ml de alcool absolut;
100 ml de apă distilată fenolată 3%.

Frotiurile se examinează la microscop şi se numără neutrofilele care au fagocitat mai mult de cinci bacterii. Dacă procentual numărul neutrofilelor care au fagocitat mai mult de cinci bacterii este mai mare de 50%, testul este pozitiv şi omul infectat. În general, se numără 10 neutrofile bine izolate pe lamă şi perfect conservate.

Reacţia opsonocitofagică este folosită în diagnosticul brucelozei la om şi animale (Tuzova, 1952). Reacţia se execută astfel (Caitmazova, 1945):

Se amestecă 0,5 ml de sînge de la bolnav; 0,25 ml de soluţie 2% de citrat de sodiu; 0,25 ml de suspensie de bacterii (4 miliarde pe 1 ml) omorîte printr-o încălzire de 1 oră la 70°C.

Amestecul se lasă 1 oră la termostat; se fac frotiuri apoi şi se colorează după metoda Giemsa. Se examinează la microscop şi se numără 25 de polinucleare. Rezultatul se exprimă în raport cu intensitatea fagocitozei, adică cu numărul de bacterii înglobate de fiecare polinuclear. Astfel:

0 — 10 indice negativ } (organisme receptive)
10 — 24 indice slab pozitiv + }
25 — 49 indice pozitiv (organism bolnav de bruceloză)
50 — 75 indice intens pozitiv +++ (organism imun).

Indicele se calculează aşa cum se arată în următorul tabel (Pop şi col., 1952).

Tabelul 33

Numărarea germenilor fagocitaţi de 25 de polinucleare

Numărul brucelelor fagocitate de un fagocit	Aprecierea intensităţii fagocitozei în raport cu numărul brucelelor fagocitate	Numărul de polinucleare pe categorii după intensitatea fagocitozei	Calculul indicelui opsonic	
			Intensitatea fagocitozei x, numărul de fagocite	Valoarea numerică a indicelui
0	Negativ (intensitate 0)	8	8×0	0
1—20	Slabă (intensitate 1)	9	9×1	9
25—40	Moderată (intensitate 2)	5	5×2	10
41	Pronunţată (intensitate 3)	3	3×3	9
Total		25		28

DIAGNOSTICUL ALERGIC

Infecţia brucelică, ca şi cea tuberculoasă sau morvoasă, alergizează organismul uman şi animal aşa cum au arătat numeroase cercetări. Animalele brucelice, ca şi cele tuberculoase sau morvoase, reacţionează în consecinţă în mod specific atunci cînd sînt inoculate cu un antigen format fie din germenul însuşi, fie din unii din componenţii lui chimici.

Primele cercetări asupra folosirii reacţiilor alergice în scop de diagnostic au fost făcute de Mc Fadyean şi Stockman (1909). Autorii, întrebuinţînd un filtrat din cultură în bulion, veche de 6 săptămîni şi omorîtă prin căldură, constată că prin inocularea subcutană sau intravenoasă a acestui produs la animale (vaci) bruceloase se obţine o ridicare a temperaturii. Fleischer şi Meyer (1918) inoculează tot în scop de diagnostic, un produs similar, pe cale intradermică, obţinînd de asemenea rezultate satisfăcătoare. Burnet (1922) foloseşte cel dintîi, în Tunis, testul alergic pentru diagnosticul brucelozei la om. Produsul alergisant era reprezentat prin filtratul unei culturi în bulion veche de 20 de zile şi încălzită apoi 1 oră la 60—65°C, şi este cunoscut sub numele de „brucelină" sau „melitină". Dubois (1933) recurge la reacţia alergică pentru diagnosticul brucelozei la oi, folosind, ca produs revelator, o suspensie de germeni (2 miliarde pe 1 ml) omorîţi printr-o încălzire de 1 oră la 70°C. Produsul a fost cunoscut sub numele de „Brucellor".

Zdrodovski (1937), în U.R.S.S., dă o amploare deosebită cercetărilor asupra folosirii reacţiei alergice în scop de diagnostic. El prepară un produs alergisant numit brucellolysat şi care este extras din germenii vii, uscaţi, trituraţi fin şi extraşi cu apă fiziologică alcalină (pH = 8,0). El era de natură protidică şi nu sensibiliza animalele sănătoase, deosebindu-se astfel de preparatul „Brucellor" a lui Dubois, folosit mult în acel timp. Brucellolysatul a fost aplicat de Zdrodovski şi colaboratorii în diagnosticul brucelozei la oi, obţinînd rezultate foarte bune. Plum şi Russeff (1939) prepara un „brucellolysat" după o tehnică proprie. Acest produs s-a arătat de asemenea lipsit de antigenitate; el nu produce anticorpi şi nu sensibilizează animalele normale. Pentru prepararea sa, bacteriile erau uscate şi apoi îngheţate şi dezgheţate în repetate rînduri; din bacteriile astfel tratate se extrăgea, cu apă distilată alcalină (pH = 7,8 — 8,0), produsul alergisant, care la un examen chimic calitativ dădea reacţii pozitive pentru proteine. Problema obţinerii unui produs alergisant a continuat să fie cercetată în U.R.S.S.; această continuare a cercetărilor a fost impusă, în special, de faptul că brucellolysatul Zdrodovski, deşi nu sensibiliza animalele normale, provoca apariţia anticorpilor aglutinanţi şi fixatori (Krasov, 1950 a), ceea ce făcea dificil diagnosticul bolii prin metode serologice, la animalele care fusese cercetate anterior prin reacţia alergică cu brucellolysat. Krasov (1940) şi Ţuverkalov (1948) au propus înlocuirea brucelizatului cu un brucelohidrolizat lipsit de orice activitate antigenică (Krasov, 1950 a), dar avînd o puternică activitate revelatoare. Produsul propus de aceşti cercetători a fost experimentat, în 1949, de V.I.E.V. (Institutul de cercetări veterinare al U.R.S.S.) şi, în urma rezultatelor obţinute pe teren, a fost introdus în practică.

În Danemarca, Ottosen şi Plum (1949) obţin de asemenea un alergen lipsit total de antigenitate: el nu sensibiliza animalele, nu producea aglutinine şi dădea reacţii specifice. Produsul este cunoscut sub numele de „PE BA“ *(precipitate extract of. Br. abortus)* şi este folosit (1955) în diagnosticul brucelozei la bovine. Produsul este de natură protidică; se obţine din lichidul de hidroliză acidă la 100° prin acidifiere la pH=4,5 cînd produsul precipită, şi dizolvarea precipitatului la pH=7,5. În Cehoslovacia (Kolar şi col., 1955) se foloseşte pentru proba alergică, un preparat F (fracţie probabil de natură protidică), iar în Germania (Godglück şi Schindler, 1954) un extras polizaharidic. De asemenea se mai întrebuinţează şi complexe fosfolipidoaminopoliosidice (P.L.A.P.S.) izolate din brucele de Niles şi Pirie (1939).

....

Hidrolizatul brucelic, produs de Ţuverkalov, se prepară după tehnica pe care o dăm mai jos. *Br. abortus* este însămînţat în plăci pe agar cu ficat şi glucoză, recoltarea germenilor se face după o incubaţie de 48—60 de ore. Suspensia se centrifughează iar depozitul se degresează şi se deshidratează în acetonă, alcool şi eter (vezi amănunte Georgescu şi col., 1956) şi apoi se usucă şi se transformă într-o pulbere. Bacteriile uscate se amestecă cu o soluţie de 0,5% acid sulfuric în proporţie de 0,5 g de bacterii pentru 100 ml de acid sulfuric diluat. Amestecul se hidrolizează 30 de minute prin autoclavare, la presiunea de 1 atmosferă.

Amestecul este apoi centrifugat şi din sedimentul bacteriilor nelizate se izolează proteina numită A, iar din lichid proteina numită C.

În vederea obţinerii proteinei A, sedimentul se dizolvă în NaOH n/10, se filtrează pînă la clarificare. Proteina din filtrat este precipitată cu acid acetic. Precipitatul se separă prin centrifugare, se spală cu apă acidulată cu acid acetic şi se dizolvă din nou în soluţia de NaOH.

Operaţiile de solubilizare în alcool şi precipitare prin acid se repetă de 5—6 ori. În fine, precipitatul se spală cu alcool de 96°, alcoolul se elimină cu eter şi produsul se usucă, obţinîndu-se o pulbere fină, solubilă în ser fiziologic în proporţie de 0,1%, la pH = 7, 4.

Produsul uscat conţine 13,4—15,6 N. Soluţiile 0,1% precipită la o concentraţie de 20—30% sulfat de amoniu; proteina pare deci să fie o globulină. Inoculată la iepure, în repetate rînduri şi în doză totală de 25 mg, substanţa uscată produce anticorpi aglutinanţi.

Proteina C. se obţine din lichidul separat prin centrifugarea culturii iniţiale, după hidroliză, prin tratarea lui cu o soluţie de 20% acid tricloracetic, cînd proteina precipită. Precipitatul obţinut se tratează cu alcool (pentru îndepărtarea acidului tricloracetic) şi apoi cu eter. Substanţa se usucă şi ea conţine 12,4 N. Din soluţiile 0,1%, substanţa precipită cu sulfat de amoniu, la concentraţia de 40—50%. Proteina C este lipsită de proprietăţi antigenice. Inoculată la 150 de oi, în doze de 0,2 ml dintr-o soluţie de 0,1%, ea nu a produs la nici una apariţia aglutininelor, în timp ce abortina, în doză de 0,2 ml (conţine 10 miliarde de bacterii pe 1 ml), a produs apariţia acestor anticorpi în proporţie de 83%. Romin (1952) obţine pe iepuri rezultate similare. (Vezi de asemenea în această privinţă lucrarea lui Georgescu şi col. 1956).

Proteina C, lipsită de proprietăţi antigenice, poate fi folosită ca substanţă revelatoare şi ea reprezintă aşa-numitul brucelohidrolizat. După Georgescu şi colaboratorii (1956) produsul poate fi standardizat prin asigurarea următoarelor constante chimice (valori medii) azot total, 49—60 mg% ; azot aminic 4,95—6,6 mg% ; azot polipeptidic 5—8 mg% ; fosfor total, 2,5 mg%. Proteina A are şi ea proprietăţi revelatoare, dar avînd însuşirile unui antigen complet produce apariţia anticorpilor ceea ce constituie un important inconvenient.

S-au descris şi alte metode care permit izolarea de produse neantigenice, dar cu activitate alergică din corpii microbieni. Astfel, Ottosen şi Plum (1949), pentru a izola produsul PE BA, acidulează cu ClH n/20, la pH = 1,3—1,5, suspensiile bacteriene le încălzesc apoi la 100°C şi, în fine le centrifughează. Lichidul clar obţinut este adus la un pH = 4,5 ; prin această acidulare se obţine un precipitat solubil la pH = 7,5 care constituie însuşi alergenul.

Pop, Dîmboviceanu, Marinov şi Barber (1939), au extras din culturile de *Brucella,* prin metoda Boivin, o substanţă glucido-lipidică, care produce reacţii de tip alergic la animalele de laborator (iepuri, cobai) sensibilizate. La om şi animale această substanţă s-a arătat însă lipsită de capacitatea de a provoca reacţii alergice.

Calea de administrare şi interpretarea reacţiei. Alergenul în scop de diagnostic, se administrează pe cale intradermică, intradermo-palpebrală sau oftalmică. La om, inocularea se face intrademic, pe faţa internă a antebraţului. La bovine, pe o latură a gîtului. La oi şi capre produsul este injectat intradermic în pliul cozii. La porci alergenul se injectează pe faţa externă a pavilionului urechii. Doza inoculată este de 0,1—0,3 ml, ea putînd varia de la un produs la altul. La animalele normale, alergenul produce o reacţie uşoară, care dispare în cîteva ore (5—6 ore). La animalele infectate apare însă la locul de administrare un edem care este evident după 24 de ore şi dispare după 48—72 de ore ; pielea din centrul edemului se poate, mai ales la om, cianoza şi necroza. Asemenea procese se observă şi la porc. Bugeac (1956) notează astfel reacţiile la porcine :

1. intens pozitivă (+++) ,cînd se produce un edem pronunţat, bine delimitat şi însoţit de tulburări circulatorii, de la congestie pînă la necroză ;
2. pozitiv (++) cînd se produce un edem cu o zonă congestivă în jur ;
3. slab pozitivă (+), cînd se produce un edem vizibil sau palpabil, neînsoţit de congestie ;
4. dubioasă (±,) cînd se produce doar o induraţie locală, fără a putea preciza dacă există sau nu edem ;
5. negativă (—), cînd nu se constată nici o reacţie locală.

Tudoriu (1953) găseşte că injecţia în labia vulvei dă la suine rezultate mai bune ca inocularea la baza urechii.

In cazul probei oftalmice, care se practică depunînd alergenul pe mucoasa conjuctivală, reacţia pozitivă constă în apariţia, după 3—8 ore de la administrare, a unei secreţii muco-purulente (Gracev, 1953).

Valoarea reacţiilor alergice în diagnosticul brucelozei la animale şi om este însemnată. Zdrodovski (1937) afirmă că probele alergice reprezintă singurul mijloc eficace şi comod de diagnostic al brucelozei la oi şi capre. Orlov (1938), în U.R.S.S. a aplicat, de exemplu, proba alergică la 108 oi sigur infectate cu *Brucella* (s-a izolat germenul din lapte sau avortoni), obţinînd rezultate pozitive la 73, 2%, dubioase la 17, 5% şi negative la 9,3%. Autorul observă că rezultatele acestei probe de diagnostic

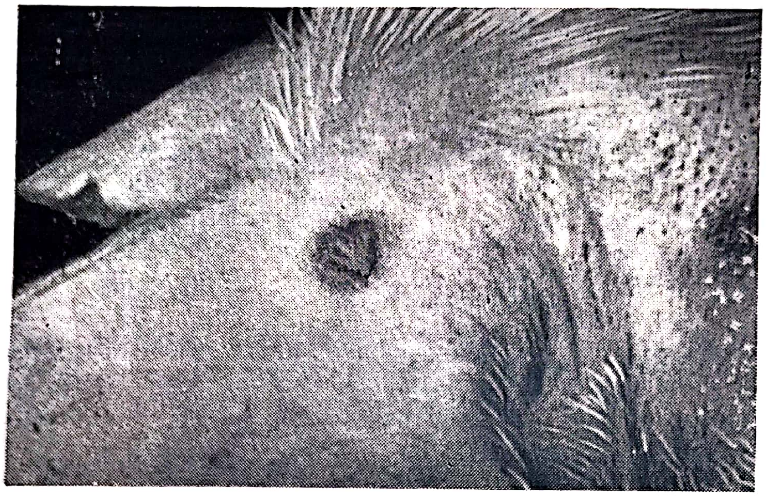


Fig. 48 — Reacție alergică pozitivă față de un alergen brucelic (după Schindler)

depind de starea generală a animalului și de anotimp. Animalele slabe nu reacționează, chiar dacă sînt infectate. Toamna, numărul reacțiilor pozitive, la oi sigur infectate, este mai mare ca în cursul lunii iunie. Krasov (1950 a), folosind comparativ brucelizatul și brucelohidrolizatul, în diagnosticul brucelozei la oi, obține de asemenea rezultate pozitive. În general, în diagnosticul brucelozei la oi se folosesc reacțiile alergice și reacția de fixare a complementului; reacția de seroaglutinare este improprie (Jușkoveț, 1955). La bovine, Live și Stubbs (1947) au aplicat proba alergică la 197 de vaci cu seroaglutinare pozitivă, obținînd reacții pozitive la un procent de 54,7%. Față de aceste rezultate, autorii conchid că proba are la bovine o valoare relativă și nu poate fi aplicată în cazuri izolate, ci numai în efective mari, în scopul de a preciza dacă există sau nu infecția în efectiv. Gracev (1954) folosește proba oftalmică pentru diagnosticul alergic al brucelozei în special la bovinele adulte. Animalele tinere reacționează într-un procent redus, chiar cînd sînt infectate. Autorul conchide că proba oftalmică nu poate fi folosită decît împreună cu alte metode de diagnostic. La concluzii similare ajung și Tudoriu și colaboratorii (1956). Ei injectează alergenul în derm, regiunea gîtului și apreciază reacția prin măsurători cu cutimetrul. O îngroșare a pielii de 2—3 mm corespunde, după autori, unei reacții pozitive.

La *cîini*, *Harisciarisvili* (1953) a obținut rezultate în diagnosticul brucelozei. Alergenul se injectează intradermic în regiunea scapulară.

La *porcine*, în diagnosticul brucelozei probele alergice dau rezultatele cele mai bune (Krasov, 1950 b, Romin, 1952). În această direcție, s-au făcut cercetări numeroase și la noi în țară, la Institutul de patologie și igienă animală, de către Surdan și colaboratorii (1953), Tudoriu (1953), Bugeac și colaboratorii (1955), Bugeac (1956). Din cercetările întreprinse reiese că brucelohidrolizatul este lipsit de antigenitate pentru animalele de experiență și că este de un real folos în diagnosticul brucelozei la această specie. Bugeac (1956), de exemplu, constată că reacția alergică depistează infecția la un procent mai ridicat de animale, decît reacțiile serologice. Astfel, din totalul porcilor cercetați de autor, 84,2% au dat reacții alergice pozitive, 46,3% au dat reacții de seroaglutinare pozitivă, iar la 66,4% reacția de fixare a complementului a fost pozitivă ; cele trei reacții au fost simultan pozitive la 39,6% din porcii cercetați iar 13,1% din efectivul examinat a reacționat numai la proba alergică, deci acest procent de animale infectate nu ar fi putut fi depistat numai prin reacții serologice.

Juskoveț (1956) afirmă că dubla inoculare a alergenului mărește pentru toate speciile valoarea de diagnostic a metodei alergice și recomandă ca acest procedeu să fie generalizat. Astfel, la oi prin aplicarea dublei inoculări procentul animalelor infectate, care au putut fi identificate, a crescut de 2—5 ori.

DIAGNOSTICUL BACTERIOLOGIC

Examenul bacteriologic se poate face la bolnavul cu simptome clinice ca și la organe provenind de la indivizi infectați.

La om, germenii se găsesc în sînge și pot fi izolați prin hemocultură în cursul acceselor termice, și anume atunci cînd febra atinge intensitatea maximă. După unele date statistice, hemoculturile sînt pozitive la 65% din cazuri sau chiar și într-un procent mai ridicat, cu condiția respectării indicațiilor de mai jos.

Sîngele pentru însămînțări este extras din venă într-o seringă care conține citrat de sodiu ; însămînțarea se face în bulion sau apă peptonată sau în bulion amestecat, în părți egale, cu bilă de bou. Bila de bou favorizează dezvoltarea germenului prin aceea că împiedică coagularea sîngelui și neutralizează puterea bactericidă a serului sanguin. În 200—250 ml de mediu se însămînțează 1 ml de sînge. Baloanele însămînțate se mențin cel puțin 7 zile la 37°C făcîndu-se din ele însămînțări pe medii solide, la diverse intervale de timp. Carrère și Roux (1954) afirmă că pentru izolarea brucelelor din forme cronice de boală se poate folosi, ca mediu de cultură, oul embrionat de găină. În acest scop, sîngele suspect se însămînțează în ouă embrionate și acestea se deschid după incubație de 6 zile ; din embrion și lichidele alantoamniotice se fac însămînțări pe medii convenabile de cultură. Germenii, în afară de sînge, mai pot fi izolați din urină sau materii fecale, precum și din splină (puncția splinei la speciile la care este posibilă). Pentru izolarea brucelelor din materiile fecale sau alte materiale cu floră secundară bogată se folosesc mediile selective (Renoux, 1954), care au fost descrise mai sus. Însămînțările din ganglionii limfatici dau de asemenea rezultate foarte bune și permit diagnosticul formelor acute de boală într-un procent foarte mare.

La bovidee și suidee, examenul bacteriologic se practică rar în timpul vieții, destul de frecvent după moarte. Însămînțările se fac din diverse organe, precum și din avortoni, învelitori. Cotiledoanele și corionul pot conține, uneori, un număr mare de bacterii, care pot fi puse în evidență prin examenul microscopic direct. Germenii se găsesc de obicei în celulele epiteliale ale corionului, unde constituie grămezi caracteristice.

Pentru izolarea germenilor se recomandă în special însămînțarea, în condiții convenabile, a conținutului stomacal al avortonilor, care, spre deosebire de placentă și învelitori, este mai tîrziu invadat de flora saprofită. Acesta se însămînțează direct sau întîi se centrifughează și apoi se însămînțează numai depozitul de centrifugare. Mediile de însămînțare pot fi agarul sau cartoful glicerinat, agarul cu glucoză, agarul cu cristal violet, mediul de cartof etc. Cristalul violet adăugat în mediu în diluție de 1/700 000 este bacteriostatic pentru bacteriile Gram pozitive, dar nu are nici o influență asupra celor Gram negative, deci nici asupra brucelelor.

Brucella poate fi izolată și din laptele animalelor infectate. În acest scop, laptele se colectează aseptic în recipiente sterile și eventual, pentru a împiedica multiplicarea bacteriilor saprofite, i se poate adăuga acid boric 0,5—1%. Se centrifughează. Unii autori folosesc pentru însămînțare numai crema, iar alții recomandă să se însămînțeze paralel depozitul și crema. La vacile cu titrul aglutinant ridicat, bacteriile se pot găsi în depozit. Însămînțarea se face în agar cu violet de gențiană sau alt mediu potrivit și coloniile suspecte se examinează serologic, prin aglutinare rapidă pe lamă.

Examenul bacteriologic direct are o mare valoare de diagnostic, izolarea brucelei constituind dovadă certă a existenței infecției. De altfel, în regiunile în care boala apare pentru prima oară, diagnosticul de certitudine se pune pe baza examenului bacteriologic și anume se confirmă bruceloza numai după ce s-a izolat și cercetat cel puțin o tulpină. Din păcate, examenul bacteriologic nu se poate aplica în toate cazurile, atît din cauza greutăților tehnice, cît și din cauza nesiguranței sale. Intr-adevăr examenul bacteriologic necesită operații multiple și adeseori, deși materialul patologic provine de la un animal sigur bolnav de bruceloză, agentul etiologic nu poate fi izolat. Un rezultat pozitiv confirmă, fără putință de îndoială un diagnostic, unul negativ însă nu-l poate infirma decît rareori.

DIAGNOSTICUL EXPERIMENTAL

În vederea diagnosticului, materialul suspect se poate inocula la cobai, care este un reactiv destul de sensibil. Inocularea se face pe cale intraperitoneală; pe această cale saprofiții sînt de regulă repede distruși, dar brucelele rezistă și invadează organismul.

Atunci cînd materialul inoculat a conținut brucele, aglutininile apar în sîngele cobaiului după un timp variabil: 4—28 de zile după inoculare. Serul cobailor infectați nu este însă, de obicei, bogat în aglutinine și de aceea o reacție pozitivă la o diluție mai mare ca 1/5 este socotită ca fiind corespunzătoare unei infecții. Sînt cazuri în care titrul aglutinant al cobailor infectați este destul de mare, 1/160, 1/320 sau chiar mai mult. Pentru izolarea tulpinii, cobaii se sacrifică după 4—5 săptămîni de la inoculare, cînd germenii sînt suficient de numeroși în splină. Culturile se fac din splină și măduva osoasă.

S-a recomandat ca materialele patologice, laptele sau învelitorile, atunci cînd conțin multe bacterii de invazie, să fie întîi sterilizate prin formol sau fierbere și apoi inoculate la cobai, în cantitate mare, urmărind apoi apariția aglutininelor în sînge. Formarea aglutininelor este provocată, în acest caz, de către germenii morți. Valoarea acestui procedeu de diagnostic rămîne încă de cercetat.

Considerații generale privind diagnosticul brucelozei

În rezumat, diagnosticul brucelozei, în timpul vieții și în afara accidentelor clinice (avort, retenții placentare, orhite etc.), se face în laborator prin reacții serologice și pe teren prin hemaglutinare, proba inelară cu lapte și proba alergică. Fiecare probă în parte nu este totdeauna suficientă, adică nu asigură descoperirea tuturor animalelor infectate. Numeroase cercetări confirmă această deficiență a diverselor metode de diagnostic. Citez, în această privință, rezultate obținute de Iakovlev, care într-o turmă de oi obține, prin seroaglutinare, 42 de reacții pozitive, prin probe alergice 89 de reacții pozitive și prin R.F.C. 153 de reacții pozitive, în total reacționînd 182 de animale. Nici o reacție nu a descoperit toate animalele, dar autorul constată superioritatea R.F.C.

Aceste rezultate ca și altele similare arată necesitatea folosirii simultane a mai multor metode de diagnostic, putînd descoperi astfel cea mai mare parte din animalele infectate.

Asocierea mai multor metode de diagnostic, asociere denumită metoda complexă, se aplică, mai cu seamă, efectivelor în care este necesar să se descopere, pe cît posibil, totalitatea animalelor infectate ; așa se procedează, de exemplu, în crescătoriile în care apar primul sau primele cazuri de infecție, crescătorii din care este necesar să se izoleze toate animalele sănătoase în vederea creării unei exploatări indemne de bruceloză.

În concluzie, trebuie precizat că metodele cele mai variate de diagnostic care se folosesc astăzi nu permit identificarea tuturor animalelor infectate, și, în consecință, animalele din efectivele sau regiunile mult contaminate trebuie considerate în totalitate ca fiind purtătoare de germeni. Transferul unor asemenea animale în regiuni indemne nu numai că nu se recomandă, dar este contraindicat, chiar dacă toate probele de diagnostic, pentru animalele transferate, sînt negative.

Profilaxia brucelozelor

Țările în care animalele sînt intensiv exploatate, sînt cele mai bîntuite de bruceloză, extinderea infecției la vaci și la porci fiind înlesnită prin aglomerarea animalelor de colectare în grajduri comune. Este suficient ca din totalul de vaci colectate și puse într-un grajd comun una sau două să fie infectate, pentru ca de la ele germenul să treacă la restul vacilor. Viteza de transmitere este condiţionată de măsurile de igienă: cu cît igiena este mai deficientă, cu atît transmiterea se face mai repede şi invers. În asemenea condiţii, la primele fătări procentul de avorturi este foarte mare, deoarece toate vacile indemne anterior şi infectate în cursul gestaţiei avortează.

Pentru a evita pierderile pe care bruceloza le provoacă economiei animale, cît şi pericolul pe care această infecţie animală îl constituie pentru om, s-au luat măsuri severe de combatere; aceste măsuri tind, în ţările în care bruceloza este foarte întinsă, să imunizeze animalele din crescătoriile sau districtele infectate, iar în ţările în care boala este puţin întinsă să o facă să dispară.

Este bine să fie precizat, de la început, că reuşita combaterii brucelozei depinde de o serie de factori şi că neglijarea unui singur factor poate compromite întreaga muncă. Diagnosticul precis este unul din factorii principali, dar el nu duce la nimic dacă nu este urmat de aplicarea măsurilor de izolare şi dezinfecţie, de supravegherea îndeaproape a animalelor care au coabitat cu cel infectat. Rezultatul combaterii depinde, pe de altă parte, de întinderea infecţiei în crescătorii. În general, în grajdurile puternic infectate, măsurile, chiar cele mai severe, nu dau rezultate pozitive. Se constată, în acest caz, că printre animalele cu reacţii negative şi izolate ca indemne apar, la fiecare repetare a controlului serologic, noi animale cu reacţii pozitive. În schimb, în crescătoriile cu un număr redus de animale infectate, măsurile de combatere pot da rezultate pozitive.

PROFILAXIA SPECIFICA. METODE DE VACCINARE

Imunizarea prin vaccinuri a animalelor contra brucelozei este principial posibilă, dat fiind că şi în urma infecţiilor naturale se instalează o stare însemnată de rezistenţă. Într-adevăr, vacile, oile, caprele sau scroafele care au avortat o dată numai rareori mai avortează a doua sau a treia oară, ceea ce nu se poate explica decît prin intervenţia unei stări de imunitate. În condiţii experimentale, încercările de imunizare au dat de asemenea rezultate pozitive. Astfel, Bang şi Stribolt (1903—1906) au arătat, primii, că vacile negestante suportă perfect inoculările subcutane de cultură virulentă şi că animalele supuse acestei operaţii nu avortează dacă li se administrează culturi virulente, per os, în cursul gestaţiei. Imunitatea conferită, chiar de culturile virulente, nu este însă absolută şi inocularea intravenoasă a culturilor virulente o poate învinge, animalele supuse acestei probe putînd avorta. Cercetările făcute, pînă în prezent, pe o scară întinsă, în diverse ţări, au arătat că vaccinurile vii, constituite din germenii avînd un oarecare grad de patogenitate, sînt singurele eficace. Tulpinile total apatogene, filtratele de culturi, bacilii morţi, nu imunizează animalele, sau le dau o rezistenţă puţin satisfăcătoare.

În ultimul timp s-au cercetat, experimental, noi formule de vaccinare cu germeni morţi (vaccinul semilichid propus de Muromţev şi Tronin, de exemplu sau vaccinul adsorbit pe hidroxid de aluminiu recomandat de Nikolaev, dar rezultatele obţinute au fost nesatisfăcătoare, aşa că s-a renunţat la prepararea şi folosirea lor (Juskoveţ, 1956). Zavarnic (1952) a afirmat că a obţinut unele rezultate pozitive. Jovanik, citat de Juskoveţ (1956), a folosit cu unele rezultate un vaccin inactivat prin coloranţi de anilină.

În scopul de a evita pericolul pe care-l constituie, pentru om şi animale, folosirea germenilor vii şi virulenţi, şi pentru a obţine, în acelaşi timp, o imunizare solidă a animalelor, s-a recurs la culturi vii şi atenuate, cercetîndu-se, experimental şi pe teren, în special tulpina de *Brucella abortus* nr. 19 (B 19), izolată de Cotton şi Buck în 1925. Această tulpină a fost îndeaproape studiată, constatîndu-se că are o serie de proprietăţi utile procesului de vaccinare. Astfel, animalele inoculate se imunizează şi nu elimină decît excepţional germenii vaccinali prin lapte; germenii vaccinali nu se găsesc în sînge, nu infectează uterul animalelor vaccinate şi nu se transmit de la vacile vaccinate la cele sănătoase. La viţeii vaccinaţi, germenii dispar din organism după 8—10 zile de la vaccinare (Orlov şi col., 1949). Fapt de asemenea important, tulpina B 19 are un grad însemnat de stabilitate. Ea se disociază puţin, într-devăr, în mediile de întreţinere. Patogenitatea ei are la fel o stabilitate remarcabilă şi nu a putut fi exaltată prin treceri pe animale. În infecţiile experimentale ea nu persistă prea mult în organismul cobailor şi şoarecilor. De exemplu, cobaii şi şoarecii, inoculaţi cu doze apreciabile de germeni (1—2 miliarde), nu mai conţin, după 5—7 săptămîni de la inoculare, de loc sau rar germeni în splina şi măduva oaselor.

După cercetările făcute de Ionică, cobaii inoculaţi cu 2,5 miliarde de germeni nu mai conţin brucele, în organe, după 50 de zile de la inoculare; în schimb, şoarecii, injectaţi cu 2 miliarde de germeni şi sacrificaţi după 60 de zile, sînt încă purtători în proporţie de 50%.

Tulpina B 19 prezintă şi avantajul că pare a nu fi patogenă pentru om. Deşi s-au manipulat cantităţi enorme din acest vaccin cu germeni vii, nu s-a semnalat, pînă în prezent, decît un singur caz de transmitere la om. Spink şi Thompsen (1953) au indentificat, într-adevăr, un asemenea caz la un medic veterinar, care a făcut totuşi o formă de boală destul de gravă; din sîngele bolnavului s-a izolat tulpina vaccinală. Infecţia, în acest caz, s-a făcut pe cale conjunctivală prin proiecţia materialului vaccinal în ochi, în cursul operaţiilor de vaccinare.

Tulpina B 19 nu se poate cu uşurinţă distinge de tulpinile virulente, ceea ce constituie desigur un dezavantaj. Kraft afirmă că folosind sensibilitatea mare a acestei tulpini faţă de penicilină (este inhibată de 1 U. I. pe 1 ml), ea s-ar putea distinge de tulpinile virulente, care sînt mult mai rezistente (25 U.I. pe 1 ml.).

Vaccinul cu tulpina B 19 se prepară din culturi de 48 de ore pe mediul de cartof şi este constituit dintr-o suspensie de germeni în apă fiziologică.

Doza, pentru un animal, este de 40—60 miliarde de germeni. Vaccinul se injectează pe cale subcutană şi injecţia lui este urmată de o reacţie inflamatorie locală, care durează 10—15 zile, şi o reacţie generală — febră cu

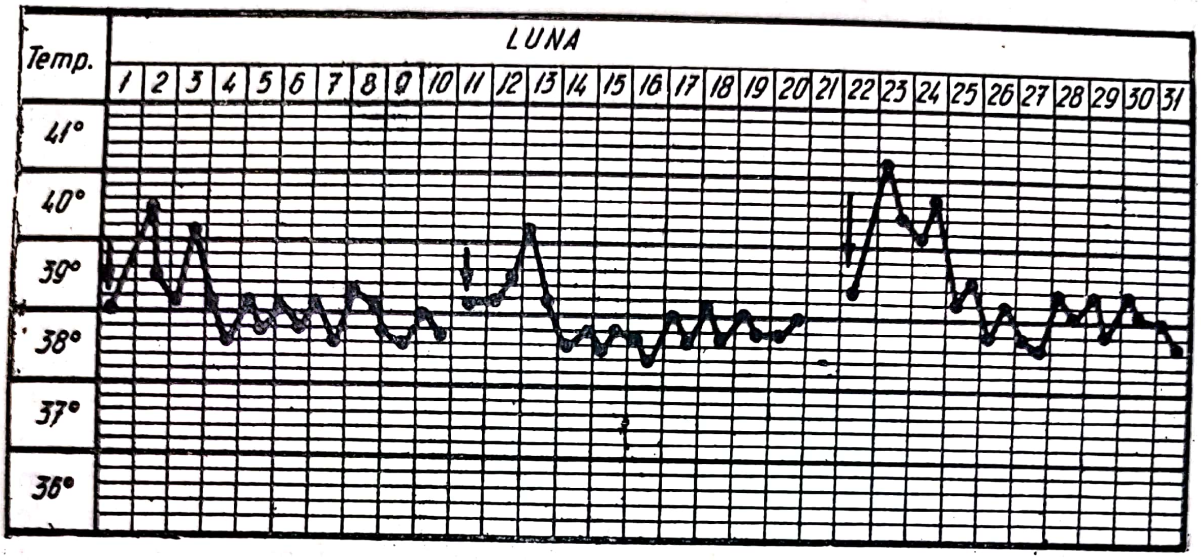


Fig. 49 — Curbele termice la trei juninci vaccinate cu B_{19}
săgeata — momentul injectării vaccinului

1—1,5°C peste normal — care se menţine timp de 2—3 zile. După unii autori, injecţia intradermică ar da mai bune rezultate decît cea subcutană. Vaccinarea animalelor, în perioada de lactaţie, reduce producţia de lapte. Reducerea se face, după Davîdov (1950), în primele 2—3 zile după vaccinare şi atinge 2,5—23,1% din producţia totală.

Vaccinul se aplică la vitele în vîrstă de 6—12 luni şi care provin din efective infectate puternic, peste 15%. Animalele trebuie să fie în momentul vaccinării serologic negative, iar după vaccinare să fie izolate de animalele bruceloase timp de 3 luni. Vaccinul s-a aplicat şi la vaci adulte şi chiar gestante. La acestea din urmă, în special după a cincea lună de gestaţie, se pot produce uneori avorturi vaccinale, de aceea nu este recomandabilă vaccinarea unor asemenea animale.

În sîngele animalelor vaccinate, apar aglutinine şi anticorpi fixatori; aceştia sînt decelabili chiar după 7 zile şi ating concentraţia maximă după 15—18 zile (Ionică, 1954). Titrul aglutininelor, la nivelul maximei concentraţii, trebuie să fie de cel puţin 1/200 pentru ca un animal să fie considerat imunizat. Animalele care nu ating acest titru trebuie revaccinate, deoarece o slabă producţie de aglutinine constituie o dovadă că ele au reacţionat slab sau de loc, faţă de antigen. Producţia de anticorpi este în legătură cu reactivitatea organismului. Se observă, în acest sens, că animalele ţinute la păşune şi hrănite cu furaje verzi produc mari cantităţi de aglutinine în urma vaccinării; se recomandă deci ca vaccinarea să se facă în special în timpul primăverii (mai—iunie).

Negativarea reacției de aglutinare se produce după 6—18 luni de la vaccinare. La unele animale negativate, reacția se poate pozitiva din nou. Există deci, uneori, o fluctuație a anticorpilor legată probabil de persistența germenilor vaccinali în organism și de reactivarea focarelor în care se găsesc. Anticorpii fixatori, după Tuzova (1955), dispar mai repede ca cei aglutinanți — după 4—6 luni. Animalele vaccinate nu sînt alergice și nu reacționează, de regulă, la alergenii folosiți în scop de diagnostic. Animalele vaccinate ar putea fi deci deosebite de cele infectate spontan (Tuzova, 1955).

Animalele vaccinate nu transmit infecția la animalele nevaccinate.

Se admite că vacinul preparat cu tulpina B 19 imunizează animalele în proporție de 95% ; imunitatea conferită nu este absolută și infecțiile naturale masive o pot învinge.

În afară de tulpina B 19 s-au folosit și alte tulpini, precum și alte procedee de vaccinare. Astfel, Jușkoveț, a experimentat o serie de tulpini, din care una (nr. 68) a dat la bovine bune rezultate după cum reiese din cercetările făcute de Anisimov și colaboratorii (1955), și de Tuzova (1955).

De asemenea, pentru inmunizarea oilor contra brucelozei, Borzenkov (1955) a folosit cu bune rezultate o tulpină atenuată de *Br. suis*, dar avînd o înaltă valoare antigenică, așa cum reiese din cercetările făcute de Orlov și de Cernîșeva, care au studiat în prealabil tulpina nr. 61. Inocularea intradermică a vaccinului, care este o cultură în bulion, imunizează mai solid ca inocularea subcutanã. Lafenêtre și Carrère (1956) obțin la ovine unele rezultate cu un vaccin constituit din o suspensie de germeni vii a unei tulpini total avirulente asociată cu antigen glucido-lipidic sau cu anacultura unei tulpini foarte virulente de *Br. melitensis*.

Huddleson a recomandat o tulpină mucogenă, cunoscută sub numele de *Brucella M*. Rezultatele vaccinării cu această tulpină nu sînt încă concludente (Woods, 1954).

Vaccinările cu culturi vii duc, de cele mai multe ori, la crearea unor animale rezistente față de *Brucella* și la care infecția, în majoritatea cazurilor, nu se manifestă prin avort. Se citează și cazuri cînd vaccinarea a dat rezultate foarte slabe. Kerlin și colaboratorii (1945) au constatat, într-un asemenea caz, că un procent de 37% dintr-o grupă de vite vaccinate la vîrsta de 6—8 luni, ajunse la maturitate, au avortat și că în două cazuri s-au izolat tulpini virulente de *Br. abortus*. Aceste rezultate negative pot fi puse însă în legătură și cu valoarea seriei de vaccin folosită, cu modul de conservare a vaccinului, cu reactivitatea organismelor etc.

Vaccinarea, pînă în momentul de față, trebuie considerată ca o metodă provizorie de combatere. Ea reduce pierderile economice, dar nu combate infecția. Din contra, ea împiedică uneori eradicarea ei. În consecință, metoda vaccinării nu trebuie aplicată decît în efective compromise, în care alte procedee sînt sortite nereușitei.

Vaccinarea cu tulpina B 19 sau cu tulpini similare se aplică numai la bovine. Unii cercetători au încercat acest vaccin și la porcine, dar rezultatele au fost negative sau slabe (Kernkamp şi col., 1948). Alţi cercetători au obţinut rezultate mai bune întrebuinţînd alte tulpini. Altfel Nikolaev (1953) obţine rezultate pozitive cu un vaccin formolat şi cu alaun, preparat dintr-o tulpină virulentă, recent izolată, de *Br. suis.* Bunnel şi colaboratorii (1953) obţin însă rezultate negative lucrînd cu extracte fenolate şi eterate de *Br. suis.*

Prin urmare, în faza actuală a cunoştinţelor noastre porcii nu se vaccinează, în condiţii de teren, contra brucelozei.

Natura imunităţii antibrucelice nu este încă precizată, adică nu se poate încă spune, dacă rezistenţa antibrucelică este legată sau nu de prezenţa în organism a unor germeni vii virulenţi sau vaccinali. Zdrodovski (1948) afirmă că există în bruceloză o imunitate nesterilă şi o imunitate sterilă. Imunitatea nesterilă, în special la bovine, se transformă cu timpul într-o imunitate sterilă. Timpul necesar acestei treceri nu este încă precizat. Ceea ce se ştie cu certitudine este că această sterilizare se face foarte încet şi că animalele infectate pot transmite, după ani de zile, infecţia la altele indemne.

Cercetările făcute pe cobai par a arăta că cel puţin la acest animal imunitatea antibrucelică este în legătură cu persistenţa germenilor vaccinali în organism, deci o imunitate de infecţie. Pollack şi colaboratorii (1952), Kelly şi colaboratorii (1953), Pamales-Lebron şi Fernandez (1953) au arătat, în această privinţă, că o primă infecţie realizează o stare de rezistenţă faţă de o reinfecţie. Germenii reinfecţiei dispar repede din ţesuturi, ceea ce nu împiedică însă ca germenii infecţiei primare să persiste. Există deci în bruceloza cobaiului un proces similar cu cel descris de Koch în tuberculoză.

PROFILAXIA NESPECIFICĂ

În crescătoriile şi regiunile în care bruceloza este puţin întinsă, ea trebuie să fie combătută numai prin măsuri sanitare, care permit să se creeze efective indemne. Depistarea animalelor infectate, izolarea şi sacrificarea lor duc la acest rezultat. Aplicarea strictă a acestei metode a dus în unele ţări la reducerea într-o mare măsură, a infecţiei. Sacrificarea tuturor animalelor cu reacţii pozitive produce pagube materiale mari, şi, în plus, ea nu dă rezultate decît atunci cînd este asociată cu măsuri stricte de dezinfecţie. Acolo unde sacrificarea nu este posibilă, trebuie căutat, prin mijloace potrivite, să se împiedice extinderea infecţiei ; în acest scop se iau o serie de măsuri preventive.

Astfel, în grajdurile infectate se separă animalele cu reacţii negative de cele cu reacţii pozitive sau dubioase ; aceste două din urmă categorii de animale sînt ţinute în grajduri complet izolate. În timpul cît animalele sînt sub controlul serologic se vor lua măsuri care să împiedice trecerea infecţiei de la un animal infectat la altul sănătos ; fiecare animal, din locul supus controlului serologic, va fi socotit infectat şi tratat ca atare. Dezinfecţia în grajd se va face cel puţin o dată la 10 zile. Efectivul indemn va fi pus în grajduri riguros dezinfectate.

În grajdul vacilor indemne nu se introduc animale noi decît după un atent examen serologic şi o carantină de cîteva săptămîni, sau chiar luni.

Fătările trebuie să se facă în boxe speciale; vacile sînt duse aici cu cîteva zile înainte de fătare sau imediat ce prezintă tulburări care pot fi puse în legătură cu avortul (tumefacţia vulvei şi scursoare vaginală) şi sînt ţinute pînă ce orice scurgere vaginală şi deci orice eliminare masivă de germeni a încetat. În caz de avort, avortonul va fi îngropat sau ars. Dacă se socoteşte necesar examenul bacteriologic, avortonul va fi trimis la laborator, în condiţii care să împiedice difuzarea infecţiei şi îmbolnăvirea oamenilor şi animalelor. Boxa de fătare va fi dezinfectată după fiecare avort sau fătare normală. Animalele cu metrite vor fi tratate în boxe de izolare şi nu vor fi introduse în grajdul comun decît după vindecare.

La 2—3 săptămîni după avort sau chiar după o fătare normală, urmată de retenţii placentare sau metrite, se va recolta sînge şi trimite la laborator pentru examen serologic.

Suspiciunea de avort infecţios se exclude în cazul cînd examenul bacteriologic al avortonului şi examenul serologic al mamei au fost negative.

Aceste diverse măsuri nu duc la asanarea efectivelor decît în grajdurile cu un procent redus de animale infectate. În crescătoriile în care procentul de animale infectate este mai mare de 10—20% se va renunţa la orice combatere. Animalele vor fi sechestrate şi exploatate ca animale infectate, luîndu-se toate măsurile pentru a împiedica difuziunea infecţiei la om şi animale.

În U.R.S.S. ca şi în R.P.R., în vederea asanării brucelozei şi creării de crescătorii indemne, cu cît mai puţine pierderi economice, adică fără a recurge la sacrificări masive, s-au constituit ferme de izolare, în care se aduc toate animalele infectate clinic sau serologic, de o oarecare valoare economică. Izolarea animalelor în aceste ferme, trebuie să fie severă. Laptele provenind de la aceste animale se pasteurizează îndată după muls şi numai apoi se dă în consumaţie sau se prelucrează. Prelucrarea lui este bine să se facă chiar în incinta fermei infectate.

În fermele infectate se vor lua măsuri de protecţie a oamenilor care prin munca lor vin în contact cu animalele.

În vederea creării efectivelor indemne, viţeii provenind de la vacile infectate se cresc în grajduri separate, situate la cel puţin 2 km de grajdul de izolare. În primele 7 zile ei sug colostrul matern, apoi sînt hrăniţi la găleată cu lapte provenind de la vaci sănătoase, sau, în lipsă, lapte pasteurizat de la vaci bruceloase.

Viţeii provenind de la mame infectate sau sănătoase sînt supuşi controlului serologic după ce au împlinit 3 luni. Cei cu reacţii pozitive sînt eliminaţi şi duşi la grajdul de izolare sau sacrificaţi. Viţeii care la trei probe consecutive făcute la interval de 3 luni dau reacţii negative, sînt socotiţi indemni şi trecuţi în grajdul animalelor sănătoase.

Crearea fermelor de izolare permite eradicarea brucelozei în crescătoriile de vaci infectate. Vacile infectate se trimit la ferma de izolare şi grajdurile se dezinfectează. Cum printre vacile care dau reacţii negative pot să mai apară cazuri de boală, este necesar ca aceste efective să fie îndeaproape supravegheate clinic şi serologic. La aceste efective se vor face trei examene serologice în cele 2 luni care urmează eliminării animalelor infectate, iar în următoarele 9 luni, trei examene serologice, la 3 luni distanţă unul de celălalt. Animalele care dau reacţii pozitive sînt duse de asemenea la ferma de izolare.

O crescătorie se consideră indemnă cînd prin cinci examene serologice, făcute la 3 luni interval, nu s-a identificat nici un animal cu reacţii pozitive sau dubioase.

Bruceloza suideelor poate fi asanată, după unii autori, prin măsuri sanitare. Crescătoriile suspecte sînt în primul rînd examinate serologic. Dacă numărul animalelor cu reacţii pozitive este mare, peste 10—20%, toată crescătoria este desființată, prin sacrificarea tuturor animalelor după îngrășare. Dacă numărul animalelor cu reacţii pozitive este mic, se procedează la izolarea strictă a animalelor cu reacţii pozitive şi sacrificarea lor după îngrășare. Sacrificarea este urmată de o dezinfecţie radicală. Animalele sănătoase, inclusiv purceii, sînt reexaminaţi serologic, după cel mult 2 luni. În absența oricărei reacţii pozitive crescătoria, după o nouă dezinfecţie, este declarată indemnă de bruceloză. Cînd încă se obţin reacţii pozitive, examenul se repetă după alte 2 luni, iar animalele descoperite a fi infectate sînt eliminate din crescătorie. În timpul cît durează aceste examene, crescătoria este în carantină.

Creşterea separată, după înţărcare, a tineretului porcin, provenit din crescătorii infectate, dar cu procente reduse de reacţii pozitive, dă rezultate pozitive, adică permite crearea efectivelor indemne de bruceloză. Principial, această metodă se sprijină pe constatarea că purceii, chiar cînd provin din mame infectate şi au supt un lapte infectat, nu rămîn, în general purtători de germeni. Tineretul porcin, ca şi cel bovin, nu reţine, de regulă brucelele. Acestea trec prin organism fără să-l infecteze şi fără să-l imunizeze. Purceii crescuţi în afara contactului infecţios pot deveni indemni de infecţie. Metoda aceasta de obţinere a efectivelor indemne nu dă rezultate pozitive, așa cum au arătat Surdan şi colaboratorii, atunci cînd efectivul de scroafe-mamă este puternic infectat. În acest caz este foarte probabil că rămîn purceii purtători, care nu pot fi descoperiţi prin metodele serologice şi care transmit infecţia la tot efectivul. Examenele serologice arată că în aceste cazuri procentul de reacţii serologice pozitive creşte de la un examen la altul, cuprinzînd în cele din urmă tot tineretul izolat.

Tratamentul brucelozei

Tratamentul animalelor bolnave de bruceloză a fost încercat încă de la descoperirea bolii şi se încearcă şi acum, dar nu s-au obţinut încă rezultate pozitive. Deci încă nu dispunem de nici un mijloc practic de tratament. Diverse produse chimice, ca iodura de potasiu, neosalvarsanul, acidul salicilic, albastru de tripan etc. au fost, rînd pe rînd, recomandate şi au fost curînd părăsite ca fiind lipsite de eficacitate. Aureomicina a fost încercată în tratamentul brucelozei porcine, iar rezultate obţinute au fost puţin satisfăcătoare (Bunnel şi col., 1953).

Serul imun a fost şi el cercetat de numeroşi experimentatori şi cei mai mulţi au ajuns la concluzii negative. Juscoveţ, Tion şi colaboratorii (1952), Bucinev şi colaboratorii (1954) au obţinut însă un ser imun antibrucelic, care s-a arătat activ atît în cercetările experimentale, cît şi pe teren. Astfel, serul protejează cobaii faţă de infecţie, cu trei doze minime infectante, într-o proporţie de 63—70%. Şoarecii, injectaţi cu ser şi apoi cu 6—10 doze minime infectante rezistă în proporţie de 40%. Rezultate similare au obţinut pe animale de experienţă (şoareci) Live şi Giuliani (1953).

Serul imun, inoculat în doze curative, protejează vacile neinfectate şi gestante, care se găsesc în mediu infectat, adică ele fată normal în proporţie de 100%. Bucinev şi colaboratorii (1954) constată că junincile cu reacţii pozitive sînt protejate de serul imun şi fată normal în proporţii însemnate. Tion şi colaboratorii (1952) au obţinut un ser antibrucelic imunizînd animalele (bovine) cu extracte din fetuşi bruceloşi şi cu filtrate de cultură. Administrînd acest ser la 206 vaci bolnave de bruceloză ei constată că 106 animale s-au vindecat complet, 60 parţial, iar la 40 terapia serică a fost ineficace şi nu a dus la scăderea titrului de anticorpi aglutinanţi.

Rezultă din aceste date că serul antibrucelic ar putea constitui un mijloc important de reducere a procentului de avorturi în efectivele infectate prin valoarea lui preventivă însemnată. Valoarea curativă pare a fi însă mai redusă.

La om, s-au făcut încă şi mai numeroase încercări de tratament.

Serul imun s-a arătat de o eficacitate redusă sau nulă. Rezultate bune s-au obţinut cu unele produse chimice. Astfel, atebrina, în doză zilnică de 0,3 g, timp de 8 zile, dă, după unii clinicieni, rezultate pozitive. Streptomicina, s-a arătat a fi o medicaţie preţioasă, ea putînd fi folosită, în cazuri speciale, şi la animale. Rezultate şi mai satisfăcătoare s-au obţinut, la om, asociind streptomicina cu sulfadiazina. Streptomicina se inoculează intramuscular în doză de 0,5 g. Injecţiile se repetă din 6 în 6 ore, timp de 7 zile. Sulfadiazina se administrează, paralel, per os. Prima doză de sulfadiazină este de 4 g; dozele următoare sînt de cîte 1 g şi se dau din 4 în 4 ore, timp de 2—3 săptămîni.

Aureomicina pare cea mai activă. Doza terapeutică, totală într-o infecţie brucelică umană este de 10—15 g. Tratamentul începe cu o doză zilnică de 2—2,5 g care se reduce cu 0,5 g de la o zi la alta sau din 2 în 2 zile. Tot tratamentul durează 4—6 zile. Se obţine, prin această medicaţie, o remediere a stării generale, dar nu vindecarea totală şi sterilizarea organismului. După Castaneda (1953, 1954) teramicina ar da rezultate încă şi mai bune ca aureomicina. Recidivele sînt posibile. Vaccinoterapia a fost adoptată în unele clinici, dar vaccinul, inoculat intradermic sau subcutan, produce la unii bolnavi reacţii generale puternice, febră şi reacţii locale. Ciasovnikova (1953) socoteşte totuşi că vaccinul, aplicat în bune condiţii constituie cel mai bun mijloc de tratament al brucelozei umane (vezi de asemenea monografia lui Pop şi Isac, 1954). Vaccinoterapia se recomandă a fi asociată printr-un tratament susţinut cu antibiotice (Rouqués, 1954).

Telenkov (1951) a tratat peste 200 de bolnavi de bruceloză, cu un extras obţinut din frunzele de aloes, cu rezultate bune.

Problema tratamentului brucelozei umane, cu toate aceste încercări, rămîne deschisă.

BIBLIOGRAFIE

ANDREONE A. — Endomiocardita bruceloasă, *Minerva Med.* (italiană), 1953, 44, p. 2052.

ANINA-RADCENKO, BRATLAVET N. şi IVANOV F. — Despre leziunile căilor biliare în bruceloză, *Jurnal Microbiol. Epidemiol. i. Imunolog.*, 1953, nr. 6.

ANISIMOV I. I. şi col. — Profilaxia specifică a brucelozei taurinelor. *Veterinaria,* 1955, nr. 5, p. 25.

ASKALOV P. şi FAIBISENKO — Pasteurizarea experimentală a laptelui de la vitele bolnave de bruceloză, *Ghighiena i Sanitaria,* 1950, nr. 4.

BANG B. şi STRIBOLD V. — *Maanedsskrift for Dyrlaeger,* 1896, 8, p. 146.

BASSET şi SMITH P. W. — Infecţii cu paramelitensis la om şi animale, *J. of. trop. med.,* 1921, 24, p. 53.

BENDTSEN H., CHRISTIANSEN W. şi THOMSEN A. — Enzootii cu Brucella la porcine în Danemarca. Iepurele ca izvor probabil de infecţie, *Nord. Vet. Med.,* 1954, 6, p. 11 şi 1956, 8, p. 1.

BIGGI P. — Prostatita bruceloasă la un taur, *Ann. Fac. Med. Veter.,* 1953, 6, p. 149.

BORZENKOV S. D. — Imunizarea oilor împotriva brucelozei cu tulpina Br. suis nr. 61, *Veterinaria,* 1955, nr. 5.

BRUCE D. — Practitioner, 1887, 39, p. 161 şi *Brit. med. J.,* 1893, 2, p. 59.

BUCINEV N. K. şi col. — Serul antibrucelic hiperimun. *Veterinaria,* 1954, nr. 7.

BUGEAC T., CRISTESCU M., LELUŢIU C. şi MORARU F. — Reacţia alergică în depistarea brucelozei la porci. *Pr. de Epizootologie,* 1955, 4, p. 3.

BUGEAC T. — Reacţia alergică cu brucelohidrolizat ca metodă de diagnostic în bruceloza porcilor, *Probleme Zootehnice şi Veterinare,* 1956, nr. 8, p. 62.

BUNNEL D., BAY W. şi HUTCHINGS L. — Studii privind terapia brucelozei porcine cu aureomicină, *Am. Journ. Vet. Res.,* 1953, 14, p. 150.

BUNNEL D., BAY W. şi HUTCHINGS L. — Studiul asupra vaccinării porcului contra brucelozei, *Am. Journ. Vet. Res.,* 1953, 14, p. 160.

BURNET E. — *Arch. Inst. Pasteur, Tunis,* 1922, 2, p. 165.

CARRERE L. şi RENOUX G. — Anticorpi blocanţi în serul bruceloşilor, *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 80, p. 103.

CARRERE L. şi ROUX J. — Hemaglutinarea pasivă a hematiilor sensibilizate prin antigeni brucelici sau substanţe solubile specifice, *Ann. Inst. Pasteur,* 1952, 83, p. 810.

CARRERE L. şi ROUX J. — Cercetarea brucelei în sînge prin inocularea la embrioni de găină, *Ann. Inst. Pasteur,* 1954, 87, p. 220.

CASTANEDA R. şi CARRILLO CARDENAS C. — Tratamentul brucelozei, *Ann. J. Med Sci.,* 1953, 226, p. 504.

CASTANEDA R. — Asupra chimioterapiei brucelozei. *Rev. Path. Génér. Comp.*, 1954, 54, p. 890.

CERNĂIANU C. — Avortul epizootic al bovideelor. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 1935, 47, p. 3.

CERNĂIANU C. şi JITARCIUC N. — Asupra avortului infecţios al bovideelor cu Br. bovis. Un caz la om. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, p. 350.

CHRISTIANSEN J. M. şi THOMSEN A. — Cercetări istologice în infecţia cu Br. suis la porc. *Acta Pat. et Microbiol. Scandinavia*, 1934, Supl. 18, p. 64.

CIASOVNIKOVA E. P. — Contribuţii la problema vaccinoterapiei specifice în bruceloză. *Kliniceskaia Mediţina*, 1953, nr. 6, p. 14.

CIOGLIA L. şi MEDDA A. — Bruceloza la capre, *G. Batt. Imunnol.*, 1953, 46, p. 89.

CLAPP K. H. — Relaţiile între infecţia brucelică umană şi infecţia laptelui vacilor, *Med. J. Australia*, 1953, 1, nr. 17, p. 583.

CRUICKSHANK J. C. — Observaţii asupra speciei Brucella bazate pe examenul a 800 tulpini, *J. Hyg.*, 1954, 52, p. 105.

DIMBOVICEANU A., BARBER C., POP AL. şi MARINOV I. — Antigenul complet din Brucella. Caractere chimice. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, p. 736.

DAVIDOV P. — Producţia vitelor de lapte în timpul vaccinării contra brucelozei. *Veterinaria*, 1950, nr. 12, p. 30.

DEMCENKO V. A. — Indicii reactivităţii imunologice a organismului în bruceloza ovină. *Mikrobiologhicinii Jurnal*, 1953, 1, p. 11.

DEMCENKO V. A. — Rolul scoarţei cerebrale în reactivitatea imunologică a organismului la oile bruceloase, supuse vaccinoterapiei. *Mikrobiologhicnîi Jurnal*, 1953, 1, p. 20

DESMONTS T. şi col. — Dermatita eritemato-scvamoasă melitococică, *Bull. Soc. franc. Derm. Syph.*, 1953, p. 444.

DOBRE N. — Consideraţii la studiul brucelozelor în Romînia. (Determinarea tulpinilor de Brucella izolate în ţară). *Teză la Facultatea de Medicină veterinară* Buc., 1937.

DROJEVKINA M. S. — Antigenul Vi la Brucella, *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiologhii*, 1954, 5, p. 24.

DUBOIS CH. şi SOLLIER N. — Serodiagnosticul Wright la oile atinse de melitococie în perioada care urmează avortului. *Ann. Inst. Pasteur*, 1932, 48, p. 372.

DUBOIS CH. — Specificitatea reacţiei alergice ca mijloc de diagnostic în melitococia ovină. *Ann. Inst. Pasteur*, 1933, 50, p. 632.

DUBROVSKAIA I. — Antigenele din specia Brucella suis. Izolarea, purificarea şi caracterizarea lor chimică. *Biochimia*, 1950, vol. 15, nr. 6, p. 490.

ERMIN M. V. — Bruceloza la cîini, *Karakulevodstvo i zverovodstvo*, 1953, 2, p. 83.

EVANS A. — *J. inf. Dis.*, 1918, 22, p. 580.

FALCOIANU M. şi MIHAILESCU M. — Cercetări asupra avortului infecţios al vacilor din Bucureşti, *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1923, nr. 7—8.

FEY H. şi BÜRKI F. — Cercetări privind diagnosticul serologic al brucelozei umane prin testul blocării şi testul Coombs, *Schweiz, Med. Woch.*, 1953, 83, p. 573.

FERRIS A. A. şi col. — Testul sensibilizării antiglobulinice aplicat în diagnosticul infecţiei cu Brucella, *Med. J. Australia*, 1953, 1, nr. 18, p. 619.

GEORGESCU V. şi col. — Cercetări biochimice şi serologice asupra hidrolizatului brucelic, *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1956, 6, p. 215.

GODGLÜCK şi SCHINDLER — Experimentarea unui polizaharid brucelic în proba

JUŞKOVEŢ M. — Bruceloza animalelor domestice. Moscova. *Selhozaghiz*, 1952.

JUŞKOVEŢ M. — Eficacitatea vaccinării în combaterea brucelozei la taurine, *Trudi gosudarstvenogo naucino Kontrolinogo instituta veterinarnah preparatov*, 1952, 3, p. 51.

JUŞKOVEŢ M. — Realizările şi sarcinile ştiinţei veterinare în combaterea burcelozei animalelor domestice. *Veterinaria*, 1955, nr. 3.

KAITMAZOVA E. I. — O metodă rapidă de diagnostic a brucelozei, *Jurn. Microbiol. Epidemiol. i Imunobiol.*, 1954, nr. 7—8, p. 57.

KARKADINOWSKY C. — Despre bruceloza şobolanilor gri sălbatici, *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 121, p. 1611.

KELLY E. H. şi col. — Alte studii privind suprainfecţia în bruceloza experimentală a cobaiului *J. Inf. Dis.*, 1953, 93, p. 9, p. 181 şi p. 187.

KERLIN şi GRAHAM — Brucella abortus izolată din avortonii vacilor vaccinate. *J.A.M.V.A.* 1945, 106, p. 356.

KOCERGHIN I. I. — Proba inelară a laptelui în diagnosticul brucelozei. *Veterinaria*, 1953, nr. 2, p. 24.

KOLLAR J. şi KOLLAROVA F. — Cercetări asupra brucelozei la animale de fermă prin testul intradermic cu alergen neantigenic. *Veterinarstki* (Slovacă), 1955, 10, p. 192.

KONOVALOVA A. — Studiul fenomenelor de imunitate la vacile care au fost bolnave de bruceloză. *Veterinaria*, 150, nr. 12, p. 18.

KRAFT M. — Identificarea tulpinii *Br. abortus 19* prin toleranţa la penicilină. *Am. J. Vet. Res.*, 1955, 16, p. 295.

KRASOV M. V. — Valoarea comparativă a brucelizatului şi brucelohidrolizatului V.I.E.V. în diagnosticul alergic al brucelozei la oi şi capre. *Veterinaria*, 1950 a, nr. 3, p. 23.

KRASOV M. V. — Diagnosticul alergic al brucelozei la porci. *Veterinaria*, 1950 b, 7, p. 13.

KRASOV M. V. — Metoda de aplicare şi citire a reacţiei alergice cu brucellohidrolizat V.I.E.V. *Veterinaria*, 1953, 7, p. 17.

KUJUMGIEV I. — Cercetări serologice asupra serurilor de porc, cu privire la bruceloza porcină în Bulgaria, *Vet. Sbirka*, 1941, 45, nr. 4—5, p. 26.

KUJUMGIEV I. — Bruceloza şi extensia ei în Bulgaria, Sofia, 1946.

KUZDAS C. şi MORSE E. — *J. Bact.*, 1953, 66, p. 502.

KUZOV V. R. — Despre indicii reacţiei fagocitare la animale cu bruceloză. *Veterinaria*, 1952, nr. 10, 9, 21.

LAFENETRE H. şi CARRERE L. — Starea actuală a vaccinării contra brucelozei ovine şi caprine, *Rev. gén. et. comp.*, 1956, 56, p. 104.

LEHTER A. — Incercări de vaccinare cu vaccin brucelic viu. *Jurn. Microbiol. Epidemiol. i Imunobiol.*, 1953, nr. 6.

LELUŢIU, BUGEAC C. şi TUDORIU C. — Valoarea comparativă a reacţiilor de deviere a complementului şi seroaglutinarea lentă în diagnosticul brucelozei la bovine. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1949, 1, p. 86.

LIVE I. şi GIULIANI A. — Efectul protector al serului animalelor tratate cu diferiţi antigeni brucelici asupra infecţiei brucelice la şoarece. *J. Immunologie*, 1953, 71, p. 187.

PLUM N. şi RUSSEFF CHR. — Studii imunobiologice asupra Br. abortus Bang pentru stabilirea unei metode practice de diagnostic alergic. *Skandinavisk Veterinär-Tidskrift,* 1939, 29, p. 31.

POLLAK I. şi col. — *J. Inf. Dis.* 1952, 90, p. 267.

POMALES LEBRON A. şi FERNANDEZ C. — Rezistenţa la reinfecţie în bruceloza experimentală, *Proceed. Soc. Exp. Biol. med.*, 1953, 84, p. 535.

POP AL. — Contribuţii la studiul brucelozelor în Romînia. Avortul cu Bang la scroafă. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1934.

POP AL., DIMBOVICEANU A., MARINOV I. şi BARBER C. — Asupra caracterelor biologice ale antigenilor compleţi extraşi din Brucella *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 130, p. 1336 şi 1939, 130, p. 1336.

POP AL., MARINOV I. şi OGNERU V. — Cercetări asupra brucelozei, *Arch. Roum. Path. Expér.*, 1942, 12, p. 5.

POP AL. şi TURBURI A. — Bruceloza la vier în legătură cu cîteva cazuri de orchită. *Revista de medicină veterinară,* 1943, 54, nr. 9—10, p. 155.

POP AL. şi ISAC B. — Bruceloza umană. *Ed. Medicală,* Buc. 1954.

POP AL., ZILIŞTEANU C. şi TUDORIU C. — Metodele de laborator pentru diagnosticul brucelozei la om, *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie.* 1952, nr. 5, p. 15.

POPESCU FR. — Reacţia la formol — gelifiere în avortul epizootic la bovidee, *Arhiva veterinară,* 1939, 31, nr. 4—5, p. 19.

PRITULIN I. P. — Despre transmiterea brucelozei prin căpuşele Dermacentor nutallia şi Hyalomma marginatum, *Veterinaria,* 1954, nr. 7.

RAJOCAPALAN şi SANKARANARAYANAN — Bruceloza caprei, *Ind. J. Veter. Sci.*, 1944, 719, p. 21.

RAVAIOLI L. — Tentative de diferenţiere a diferitelor specii de Brucella prin antibiotice, *R. C. Ist. sup. San.*, 1954, 17, p. 418, *Ref. Bull. Inst. Past.*, 1955, 53, p. 617.

RIEGLER P. — Avortul contagios, infecţios sau epizootic. *Revista Med. Vet. Zoot.*, 1933, 45, p. 137.

RENOUX G. — Anticorpi blocanţi în serul subiectelor brucelice, *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, 78, p. 798 şi 79, p. 232, 1954, 86, p. 91.

RENOUX G. şi QUATREFAGES H. — Identificare brucelei prin activitatea ureazică *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 80, p. 182.

RENOUX G. — O nouă specie de Brucella : Br. intermedia *Ann. Inst. Pasteur,* 1952, 83, p. 814.

RENOUX G. şi ROUX J. — Tratamentul brucelozei şoarecilor prin asocierea cloramfenicolului cu 2,3 dimercaptopropanol. *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 80, p. 425.

RENOUX G. — Un mediu selectiv pentru a izola Br. melitensis. *Ann. Inst. Pasteur,* 1954, 87, p. 325.

RIAZANŢEV V. F. — Stingerea reacţiei de aglutinare în bruceloza cornutelor mari în ferme izolatoare. *Veterinaria,* 1953, 8, p. 16.

ROMIN A. V. — Cercetarea proprietăţilor active şi specifice a brucelohidrolizatului în diagnosticul brucelozei la porcine. *Trudî gosudarstvenogo naucino kontrolinogo instituta veterinarnîh preparatov,* 1952, 3, p. 289.

ROTOV I. V. — Utilizarea serurilor uscate în diagnosticul brucelozei. *Veterinaria,* 1951, nr. 2.

TUDORIU C. — Corelaţii epizootologice între bruceloza porcină şi bovină. *Anuarul* Institutului de patologie şi igienă animală, 1953, 4, p. 37.

TUDORIU C. — Cercetări asupra reactivităţii alergice în bruceloza la taurine. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1956, 6, p. 3.

TULCINSKAIA P. V. şi DEMCENKO V. A. — Specificitatea reacţiilor alergice cu brucelohidrolizat VIEV la oi cu bruceloză (date comparative), *Veterinaria*, 1952, nr. 5, p. 22.

TULCINSKAIA P. V. şi FEITELBERG D. R. şi APLEAK B. I. — Dinamica reacţiunilor imunobiologice la cobaii imunizaţi în diverse stări ale sistemului nervos cu vaccin antibrucelic viu, *Mikrobiologhicinii jurnal*, 1953, 1, p. 5.

TURCU T. şi MORARU E. — Cercetări într-un focar endemic de avort infecţios urmate de infecţii consecutive de febră ondulantă. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, 110, p. 1145 şi 1934, 115, p. 1315.

TUSZKIEWICZ A. R. şi SZEWCZYKOWSKY W. — Diagnosticul, evoluţia şi tratamentul brucelozei. *Ann. Univ. Lublin*, 1953, 8, p. 231.

TUZOVA V. R. — Despre indicii reacţiei fagocitare în buceloza la animale. *Veterinaria*, 1952, nr. 10, p. 21.

TUZOVA V. R. — Rezultatul controlului eficacităţii vaccinului preparat cu tulpina nr. 68, *Veterinaria*, 1955, nr. 7.

VANGHELOVICI M., DIMBOVICEANU A., BARBER C. şi POP A. — Antigenul complet din Brucella. Analiza microchimică. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, p. 738.

VERROTTI N. şi FORTE D. — Osteită izolată în infecţia bruceloasă la copil. Pediatria (italiană), 1954, 62, p. 80.

VISELEVSKI S. — Date moderne privind combaterea brucelozei la animalele domestice, *Veterinaria*, 1951, nr. 4, p. 8.

WIESLER — *Berl. tierärztliche Woch.*, 1936, p. 446.

WHITE P. G. şi WILSON J. B. Diferenţierea coloniilor smooth şi ne-smooth de Brucella. *J. Bact.*, 1951, 61, p. 239.

WILSON şi MILLS — *Brit. J. Exp. Path.*, 1932, p. 1.

WOODS G. T. — Rezultate de teren obţinute cu vaccinul din tulpina Brucella M. a lui Huddleson *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1954, 124, p. 310.

WITTE J. — *Berl. u Münche. tierärzt. Wscher.* 1941, p. 128.

ZAMURI I. P. şi GUBIN A. P. — Un nou antigen pentru reacţia de fixare a complementului în diagnosticul brucelozei, *Veterinaria*, 1950, nr. 4.

ZAVANIK P. N. — Imunizarea profilactică a vitelor cornute mari contra brucelozei, *Veterinaria*, 1952, 3, p. 28.

ZDRODOVSKI P. — Studii asupra febrei ondulante în Azerbaidjan. Cercetări asupra grupului Brucella melitensis abortus. *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, 45, p. 768

ZDRODOVSKI P. F. — Brucelloza. Lucrările expediţiei pentru cercetarea brucelozei ovine (1933—1936). Apărută în U.R.S.S., în 1937, referată în B.T.W., 1938, 28, p. 415.

ZDRODOVSKI P. F. — Bruceloza. *Medghiz*, Moscova, 1953, ediţia a IV-a.

Genul *Bacterium* Ehrenberg, 1828

Genul *Bacterium* a fost creat de Ehrenberg (1828), pentru a încadra bacteriile filiforme sau fuziforme; ținînd seama numai de acest caracter morfologic, s-ar putea include în acest gen toate bacteriile de formă alungită, ceea ce a fost de altfel și intenția autorului și ceea ce într-o mare măsură s-a păstrat și în clasificarea propusă de Lehmann și Neumann (1927) și în cea a lui Krasilnikov (1949). Alți sistematicieni au separat unele specii din această grupă mare de bacterii și au creat genuri noi, genul *Bacterium* rămînînd, pînă în cele din urmă, în unele determinatoare, cu un număr relativ restrîns de specii saprofite, heterogene ca formă, afinități tinctoriale, proprietăți biochimice. Astfel, în determinatorul Bergey este descrisă ca specie tip a genului *Bact. erythrogenes,* care a fost izolată din apă, precum și din laptele colorat în roșu, în urma multiplicării acestui germen. Bacteria este Gram pozitivă, produce un pigment roșu, insolubil în apă și solvanți organici, precum și un pigment galben.

Tot în genul *Bacterium* sînt incluse unele genuri suplimentare, ca:

1. genul *Cellulomonas,* în care sînt încadrate bacterii din sol capabile să digere celuloza;
2. genul *Saccharobacterium,* în care sînt încadrate bacteriile ce pot folosi, ca unică sursă de carbon, polizaharizii bacterieni;
3. genul *Agarbacterium,* în care sînt grupate bacteriile capabile să digere agarul.

Noi am cuprins în genul *Bacterium* cîteva specii Gram negative și patogene, ale căror nume de gen nu sînt încă consacrate în bacteriologie, cum sînt bacilul morvei, bacilul necrozei etc., socotind că nu se mai poate reveni și include în genul *Bacterium* specii care fac parte din genuri cu nume definitiv consacrate, ca *Salmonella, Brucella, Pasteurella,* etc. Într-adevăr, ar fi și anacronic și ar produce multe confuzii dacă în loc de *Br. abortus* am spune *Bact. abortus infectiosi,* sau în loc de *Past. animalium* am spune *Bact. septicaemiae haemorrhagiae* etc. Termenii de *Brucella* și bruceloze, de *Pasteurella* și pasteureloze, de *Salmonella* și salmoneloze sînt prea universal răspîndiți pentru a putea renunța la ei, fără a se face dificilă informația și schimbul de idei în domeniile respective.

Bacterium mallei Migula, 1895

Sinonime: *Bacillus mallei* Zopf, 1895. *Pfeifferella mallei* Buchanan, 1918. *Brucella mallei* Pacheco. 1933. *Corynebacterium mallei* Lehmann și Neumann 1899. *Actinomyces mallei* Thompson, 1933, *Malleomycces mallei* Pribram. 1886 *Mycobacterium mallei* Chester. 1901:

Numele comun: bacilul morvei.

Infecția produsă de acest bacil la solipede și om este cunoscută din cele mai vechi timpuri. Romanii numea această boală „*Malleus*“, cuvînt de origine grecească. Vegetius Renatus (400 î.e.n.) o numește „*Malleus humidus*“ sau „*Morbus humidus*“.

Caracterul contagios al bolii a dat naştere la numeroase discuţii, chiar în timpurile moderne. Solleysel (1664), Garsault (1741) şi Bourgelat 1764) recunosc caracterul transmisibil al morvei, dar Lafosse tatăl (1754) şi Lafosse fiul (1772) afirmă că boala este transmisibilă numai în forma ei acută, cea cronică neavînd această însuşire. Această opinie a cîştigat numeroşi adepţi, atît în Franţa, cît şi în alte ţări europene. Şcoala din Alfort, în frunte cu Bouley, susţine în 1843 că morva este o infecţie autosterilizabilă şi că leziunile cronice reprezintă urmele pe unde au trecut agenţii morvei, dar ele nu mai conţin aceşti agenţi ; în consecinţă, asemenea leziuni nu pot constitui izvoare de infecţie. O asemenea teorie, dat fiind faptul că ea nu corespundea realităţii, era extrem de periculoasă. Cercetările ulterioare au arătat într-adevăr, că teoria autosterilizării spontane nu era justă şi că morva este o boală transmisibilă în toate fazele ei evolutive. Viborg (1797), în Danemarca, Gohier (1813), în Franţa, dovedesc acest lucru. Rayer (1837) demonstrează infecţiozitatea morvei cabaline pentru om şi invers. Saint Cyr (1864) transmite morva la măgar, plecînd de la materialul conţinut de leziunile cronice de morvă. Morva, conchide Saint Cyr, este, sub toate formele ei clinice, o boală contagioasă. Această opinie s-a dovedit exactă şi a fost confirmată de toate cercetările făcute după izolarea şi identificarea agentului etiologic.

Primele cercetări asupra naturii agentului etiologic au fost făcute de Christot şi Kiener (1868), Chauveau (1871—1872), Babeş (1881). Aceştia au observat în leziunile morvoase formaţii bacteriene, dar, necultivîndu-le, nu au putut demonstra rolul lor în procesul morbid. Löffler şi Schütz (1882), Bouchard, Capitan şi Charrin (1882—1883) cultivă germenul şi, inoculîndu-l la diferite animale de experienţă, reproduc boala. Löffler şi Schütz cultivă bacilul pe ser coagulat de cal sau oaie şi culturile obţinute le inoculează la iepuri şi cobai, demonstrînd sensibilitatea acestor specii pentru bacilul morvei. De la cobai, ei reuşesc să transmită morva la cal. Bouchard, Capitan şi Charrin cultivă bacilul morvei în bulion ; culturile obţinute sînt patogene, chiar după mai multe treceri, pentru cobai, pisică, măgar. Israel (1883) cultivă bacilul în ser de cal ; cultura obţinută provoacă la iepuri ulcerul farcinos şi leziuni nodulare în pulmon. Cornil şi Babeş (1885) remarcă aspectul caracteristic al culturii bacilului morvos pe cartof. Löffler (1886) descrie caracterele culturale şi morfologice ale acestui bacil. Straus, un cercetător francez, pune în 1889 în evidenţă leziunile tipice care se produc la cobaiul mascul în urma inoculării intraperitoneale a bacilului. Simptomele şi leziunile care apar în acest caz sînt cunoscute sub numele de fenomenul lui Straus şi servesc la diagnosticul experimental al morvei. Helman (1891) şi Kalning (1891), independent unul de celălalt, obţin din culturile bacililor morvei, maleină, care a găsit aplicaţii întinse în diagnosticul morvei şi a contribuit într-o largă măsură, la eradicarea ei.

Caractere morfologice şi afinităţi tinctoriale. În frotiurile din organe sau din culturi tinere se întîlnesc, aproape exclusiv, numai forme bacilare drepte sau uşor încurbate, lungi de 2—5 microni, late de 0,2—0,4 microni. Bacilii pot constitui lanţuri scurte. Pe măsură ce cultura se învecheşte, polimorfismul germenului se accentuează şi, pe lîngă forme bacilare, apar numeroase filamente de lungimi variabile, precum și alte aspecte morfologice. Formarea de ramuri laterale a fost semnalată de unii autori; pe această bază ei au încadrat germenul în ordinul *Actinomycetales*. Se pare că asemenea ramificații nu există, ceea ce justifică încadrarea germenului printre bacteriile adevărate.

Bacilul morvei este asporulat și imobil; nu formează capsulă.

Afinitatea germenului pentru culorile bazice de anilină este moderată. Se colorează bine cu soluții de tionină fenicată sau de albastru de metilen. Gram negativ. Poate prezenta o colorație bipolară. Conține granulații metacromatice.

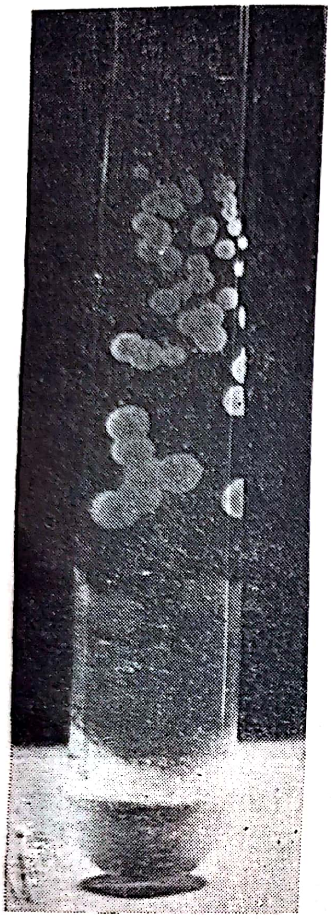


Fig. 50 — Bacterium mallei

Aspect cultural pe agar glicerinat obținut prin însămînțare din cobai infectat experimental

Medii și caractere de cultură. Bacilul morvei se cultivă pe diverse medii lichide sau solide. Bulionul glicerinat, agarul sau cartoful cu glicerină sînt aproape exclusiv folosite pentru cultivarea și întreținerea tulpinilor. Cultura obținută pe aceste medii este abundentă și, într-o oarecare măsură, caracteristică. Unii autori conservă tulpinile de morvă în agar drept. Însămînțarea, în acest mediu, se face prin înțepătură. După 48 de ore la 37°C tuburile sînt închise la flacără și puse la gheţar. În aceste condiții, germenii sînt transplantabili timp de 6 săptămîni. După diverși autori, bacilii își păstrează un timp și mai îndelungat virulența, într-un lichid constituit din 3 părți apă și 1 parte ser de cal. Pentru a realiza această conservare, germenii dintr-o cultură tînără de agar se pun în suspensie în acest amestec, care în prealabil este sterilizat prin filtrare. Tuburile cu suspensia densă se închid la flacără și se pun la gheţar. Germenii pot fi transplantabili după 1 an; ei nu pierd în aceste condiții nimic din virulența inițială.

Bacilul morvei este aerob. Preferă mediile neutre sau alcaline, $pH=7{,}7$. Temperatura optimă de dezvoltare, 35—38°C. Nu se multiplică la o temperatură mai mică de 15—20°C sau la una mai mare de 42—43°C. În mediile lichide în primele zile după însămînțare se produce o tulburare uniformă a mediului, urmată de constituirea, la suprafață, a unei membrane groase, grasă și de culoare galbenă-cenușie. Membrana se depune, cu timpul, la fundul lichidului, lăsînd pe marginea vasului un inel vîscos. Mediul se îmbogățește în germeni de la o zi la alta; culoarea lui devine din ce în ce mai închisă, din cauza pigmenților puși în libertate de bacili. Pe mediile solide — agar glicerinat, cartof glicerinat sau ser coagulat — coloniile apar după o incubație de 1—2 zile. Pe agarul glicerinat germenii formează colonii rotunde, mucoase, cu suprafața și marginile netede, lucitoare și de culoare ușor gălbuie, asemănîndu-se cu picăturile de miere. Dimensiunile coloniilor cresc și culoarea se accentuează, coloniile devenind în cele din urmă, cafenii-brune. Coloniile sînt vîscoase; se omogeneizează cu greutate.

Pe agar, cultura este numai rareori pigmentată. Coloniile izolate sînt rotunde, mari, opace, de culoare galbenă-cenușie, cu suprafața și marginile netede. Însămînțările abundente dau un strat microbian gros, opac, neavînd nimic caracteristic. Pe serul coagulat de cal sau oaie culturile sînt abundente.

Proprietăți biochimice. Bacilul morvei are foarte reduse proprietăți fermentative. S-a observat, totuși, că în prezența albuminei el desface amidonul în dextrină și maltoză. Nu lichefiază gelatina. Pe medii cu sînge, bacilul transformă hemoglobina în methemoglobină. Nu formează hidrogen sulfurat. În bulion cu peptonă pancreatică bacilul produce cantități mici în indol.

Rezistența. Bacilul morvei este un parazit obligatoriu. Eliminat din organismul gazdei el este repede distrus prin uscăciune, lumină etc. Antisepticele îl distrug într-un timp scurt. Astfel, sublimatul 1/2 000—1/5 000 omoară bacilii în 1—2 minute, fenolul 1/200 în 10 minute, lizolul, crezolul 3% în 2 minute. Acidul sulfuric 2%, apa de var saturată, hipermanganatul de postasiu constituie antiseptice energice față de germen. Incorporați în secrețiile organice ale mucoaselor germenii sînt mai greu distruși de antiseptice, din cauza protecției pe care o constituie aceste secreții. În aceste cazuri, pentru a asigura distrugerea bacililor sînt necesare soluții antiseptice mai concentrate. Bacilii se lizează cu ușurință — auto- și heteroliză. Astfel, ei sînt lizați de bilă și de extractele de *Bac. subtilis*. Sînt sensibili la uscăciune; bacilii uscați pe fire de mătase se distrug într-un timp variabil, de la cîteva zile la 1 lună. Materialul virulent uscat pe hîrtie de filtru nu mai conține germenii vii după 48 de ore. Bacilii uscați în vid, după o prealabilă congelare, sînt însă vii și virulenți chiar după ce au stat 8 luni la temperatura camerei și la întuneric.

Temperatura de 100°C omoară bacilii în cîteva secunde; la 56—60°C unele culturi sînt distruse în 10—15 minute, altele rezistă pînă la 2 ore. În mod practic, pentru a omorî germenii dintr-o cultură, trebuie să recurgem la temperaturi mai ridicate — 70 — 80°C.

INFECȚIA MORVOASA

Morva evoluează, în general, ca o infecție cronică a solipedelor; de la solipede boala se poate transmite și la alte specii animale și la om. Tulburările pe care le provoacă, la animalele sensibile, sînt datorite atît multiplicării germenilor în țesuturi, cît și produselor toxice puse în libertate, în special, prin dezintegrarea corpului bacterian.

Toxicitatea. Filtratul suspensiilor de bacili morvoși este toxic mai ales cînd germenii au suferit fenomene de dezintegrare. Helman ca și Kalning, pentru a obține endotoxina morvoasă, spălau cultura de cartof cu apă glicerinată; suspensia obținută era păstrată un timp variabil, la ghețar, și apoi germenii omorîți prin căldură erau eliminați prin filtrare. Sacharoff obține un produs toxic prin filtrarea suspensiilor nesterilizate. Babeș și Motoc se ocupă, în 1890—1891, de toxicitatea bacililor morvoși. Ei constată că filtratul culturilor este toxic pentru cobaii morvoși mai ales cînd provin din culturi vechi de cîteva săptămîni. Astfel, în doză de

4 ml, produce tulburări generale, însoţite de febră. Animalele injectate pot muri după cîteva zile sau mai mult; în acest din urmă caz ele devin caşectice. Dintr-un asemenea filtrat Babeş şi Motoc obţin, prin precipitare cu alcool de 86^0 sau cu alcool absolut şi eter, sau mai bine cu sulfat de amoniu sau de magneziu, o substanţă toxică pe care o numesc morvină. Ea produce reacţii febrile şi toxice la cobai, iepuri, păsări şi cai, comportîndu-se ca şi maleina, preparată de Helman şi Kalning.

Corpul bacililor, după îndepărtarea prin spălare a produselor toxice solubile, rămîne şi el toxic pentru animalele de experienţă. Babeş, Riegler şi Podaşcă inoculează la diverse specii animale bacili spălaţi şi omorîţi la 120°C. La cobai, 1 ml dintr-o suspensie densă de asemenea bacili, provoacă un abces local, caşectizarea şi moartea animalului. Pierderea greutăţii survine foarte repede. Astfel, unul din animale a pierdut 110 g în 9 zile. Iepurii sînt şi mai sensibili decît cobaii şi se caşectizează şi mor într-un procent şi mai ridicat. Pe cale traheală, peritoneală, venoasă, bacilii morţi produc tulburări organice grave, care duc la caşectizarea animalelor. La iepuri, în urma injecţiei intravenoase, se produc în pulmon noduli de tip morvos, care însă nu conţin bacili. Cantacuzino şi Riegler (1907) au determinat doza toxică a bacililor uscaţi şi omorîţi prin căldură (60°C) sau alcool (24 de ore de contact). Bacilii uscaţi, omorîţi prin alcool, injectaţi în doză de 40 mg, pe cale intraperitoneală, omoară cobaiul de 500 g în 1—2 zile, în doză de 25 mg ei produc o caşexie lentă şi moartea în 2—3 săptămîni; 5—10 mg provoacă o scădere trecătoare a greutăţii animalului. Bacilii omorîţi prin căldură sînt aproximativ de două ori mai toxici ca cei omorîţi prin alcool. Injectarea unei doze mari, de asemenea germeni, este urmată de hipotermie, apoi de hipertermie şi moarte. La autopsia cobailor morţi la 1—2 zile după injecţie se constată o congestie intensă a organelor şi seroaselor, splina mărită, hemoragii subpleurale şi pe intestin, depozite fibrinoase pe epiploon, degenerarea epiteliilor şi a fibrei cardiace. Cînd moartea survine în urma unei caşexii avansate, splina este enormă, rinichii sînt mari, moi, albi, prezentînd o îngroşare a stratului cortical. Dozele mari de bacili morţi (650 mg) sînt toxice chiar în administrarea cu sonda esofagiană direct în stomac. Ei provoacă moartea cobaiului. Reacţii febrile şi toxice se produc, după Riegler şi Ciucă, şi la bovine, în urma injecţiei de germeni morţi.

Cercetările recente au arătat că în constituţia bacililor morvoşi există mai multe componente toxice. Barber şi Munţiu (1952) au izolat un complex glucido-lipidic, toxic pentru şoarece şi iepure şi care are funcţiunile unui antigen complet. Stamatin, Bogdan şi Cîrsteţ (1952) au reuşit să izoleze o fracţie nucleoproteinică toxică pentru iepure şi capabilă să producă reacţii specifice la cabalinele morvoase, în doze foarte mici.

Bacilii morvei au deci în constituţia lor substanţe toxice. În culturi, datorită fenomenelor de autoliză, aceste substanţe se pun în libertate; celula microbiană nevătămată conţine şi ea substanţe toxice ceeace reiese din constatarea că filtratul are aceeaşi toxicitate ca şi corpii bacilari.

Virulenţa. Bacilii morvoşi se multiplică în organismul animalelor sensibile. Inoculaţi intraperitoneal, ei se multiplică în această cavitate fără să pătrundă masiv în sînge. Examenul microscopic al sîngelui este într-adevăr negativ, dar hemoculturile pot fi pozitive. În lichidul peritoneal bacilii sînt numeroşi şi se găsesc cu uşurinţă în frotiuri, ei sînt liberi sau înglobaţi în protoplasma leucocitelor.

Nu se cunosc cu precizie relaţiile dintre toxicitate şi virulenţă. Babeş şi Motoc afirmă că morvina izolată din bacili virulenţi este mai toxică ca aceea care provine din germeni atenuaţi.

Patogenitatea tulpinilor este foarte variabilă. Ea se pierde prin treceri pe medii artificiale de cultură, într-un timp a cărui lungime variază cu tulpina. Prin treceri pe animale de experienţă, virulenţa tulpinilor se exaltează. Riegler şi Ciucă, trecînd o tulpină în repetate rînduri, pe iepure obţin culturi care provoacă o septicemie mortală în 24—36 de ore. Tulpinile exaltate prin treceri pe cobai pot omorî animalul în 16—20 de ore; la autopsie se găsesc leziuni septicemice, cu prezenţa bacililor în sînge şi organe.

Nicolle constată că tulpinile a căror virulenţă a fost exaltată prin treceri pe cobai îşi atenuează virulenţa pentru iepure.

Doza minimă mortală variază în limite largi. Nicolle a determinat această doză pentru cobai; a folosit, în acest scop, două tulpini. Una din ele omoară cobaiul în 11—12 zile, pe cale peritoneală, în doză de 10^{-4}mg de bacili umezi dintr-o cultură de 24 de ore. Virulenţa acestei tulpini s-a micşorat prin treceri pe agar şi menţinerea culturilor între treceri la temperatura camerei. Cultura atenuată omoară cobaiul în 10—42 de zile, cu 10^{-2}mg de bacili umezi, inoculaţi pe cale intraperitoneală. Pe aceeaşi cale, doza de 10 mg putea provoca o peritonită acută, care omora animalul în 24—36 de ore. Pe cale intrapleurală, tulpina omoară cobaiul în aceeaşi doză de 10 mg. Pe cale subcutană sau intramusculară moartea nu survenea constant nici în urma inoculării a 10 mg de bacili. A doua tulpină studiată de Nicolle a fost mai virulentă; 10^{-8}mg nu infectează cobaiul; 10^{-7}mg îl omoară în 20—27 de zile cu orhită morvoasă. Doza de 10^{-6} mg provoacă la cobai o infecţie acută, cu localizare scrotală; moartea survine în 9—39 de zile. Pe cale subcutană, doza sigur mortală este de 10^{-2} mg. Doza de 1 mg produce, pe cale intramusculară, necroză, escară şi moartea în 1—2 săptămîni. Bacilul morvei este patogen pentru iepuri şi şoareci. Nicolle nu constată totdeauna un paralelism între gradul de patogenitate a unei tulpini pentru cele trei specii de rozătoare: şoareci, cobai, iepuri. Unele tulpini sînt egal de virulente pentru cele trei specii, altele sînt mai virulente pentru una ca pentru celelalte.

Infecţia experimentală. *Specii receptive.* Morva poate fi transmisă experimental la diverse specii de animale. Primele transmisii au fost făcute la solipede.

Calul se infectează pe cele mai diverse căi. Astfel, numeroşi cercetători au infectat solipedele pe cale digestivă cu culturi sau cu material patologic provenind de la animale morvoase. Cea mai severă cale de infecţie pentru cal, ca şi pentru alte animale, o constituie calea intravenoasă. Caii inoculaţi pe această cale, cu tulpini de mare virulenţă, fac o infecţie septicemică mortală în cîteva zile. La fel se comportă şi asinii. Depunerea materialului pe pielea rasă sau uşor scarificată este de asemenea, un mijloc sever de infecţie. În acest caz leziunea locală apare în cîteva zile şi constă dintr-o

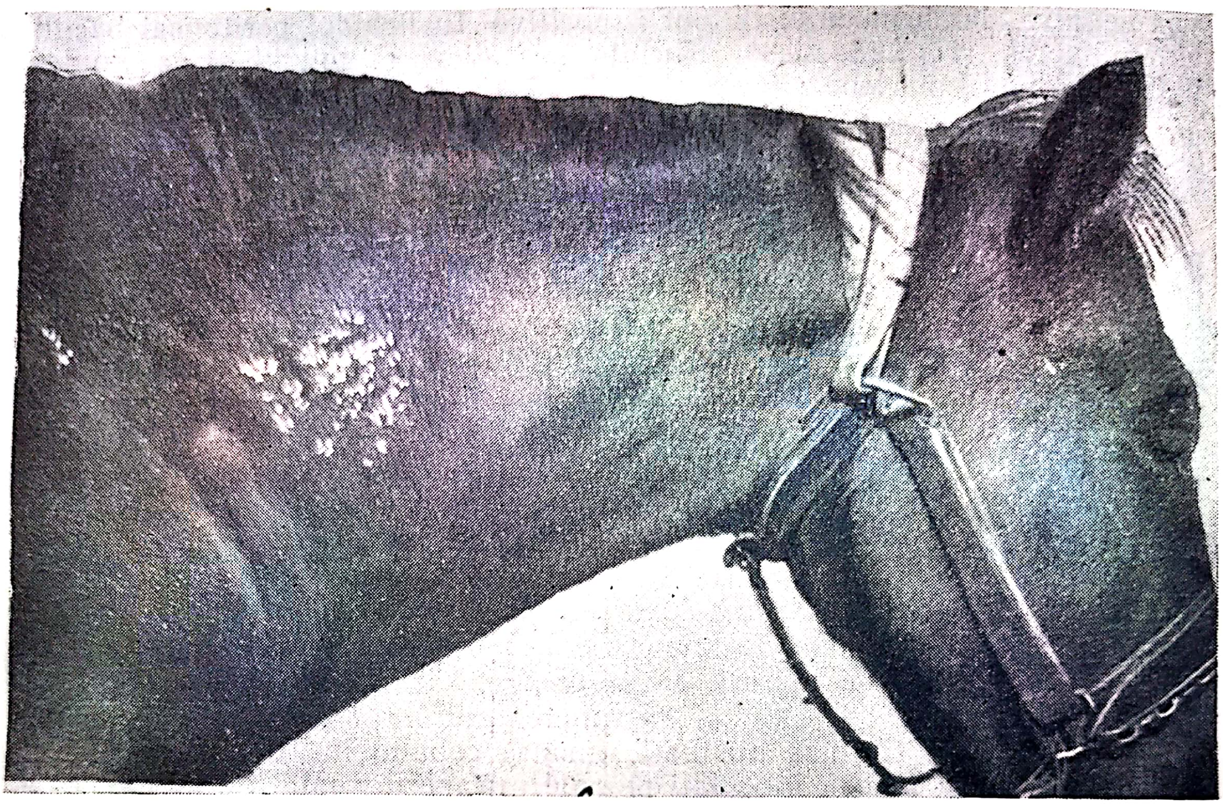


Fig. 51 — **Leziune morvoasă cutanată la cal**

Infecție experimentală prin depunerea culturii pe pielea scarificată

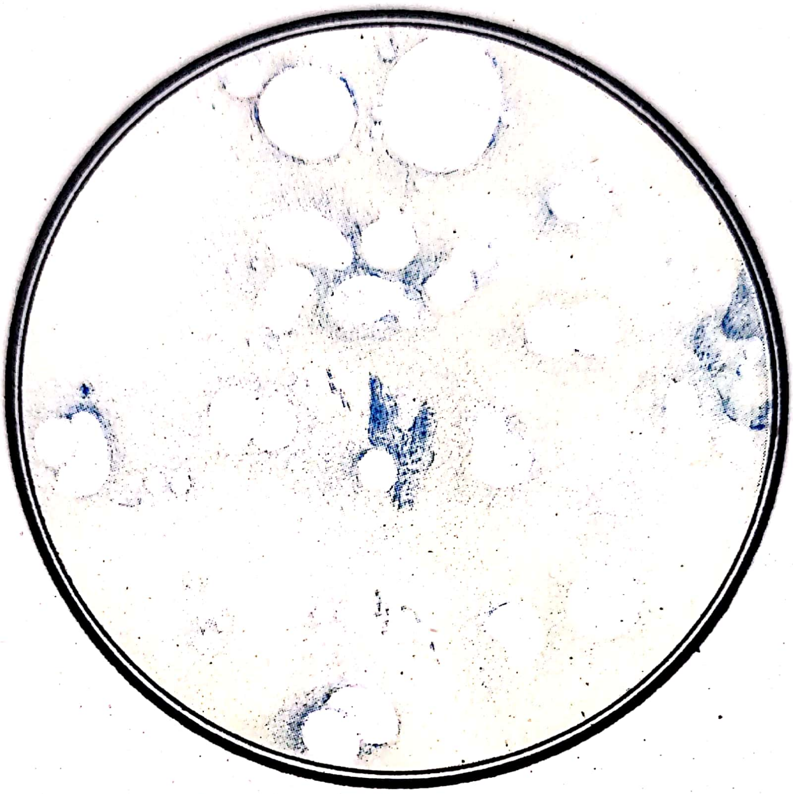
serie de ulcerații umede, înconjurate de abcese de formație secundară, dintr-o inflamație a vaselor limfatice, cu tumefierea ganglionilor aferenți. Anticorpii sensibilizanți apar în medie, după 7 zile de la infecție și tot după același interval animalul reacționează și la maleină. În comparație cu calea intradermică, infecția pe cale digestivă duce la o apariție mai tîrzie de anticorpi fixatori și a sensibilității la maleină. Într-o cercetare experimentală, la un cal infectat pe cale intradermică anticorpii specifici au apărut după 7 zile, iar la cel infectat pe cale digestivă, după 15 zile.

În afară de solipede, boala poate fi transmisă și la alte specii; cîinele, capra și pisica sînt dintre animalele domestice cele mai sensibile; inocularea subcutană provoacă deobicei o morvă acută.

Cîinele prezintă mari variații de receptivitate. La indivizii sensibili, inoculările subcutane produc, în primele zile, un edem urmat de necroză și escară. Infecția poate rămîne localizată; cicatrizarea ulcerului se face, în acest caz, în 2—3 săptămîni. Infecția se poate însă generaliza și atunci moartea survine în cîteva săptămîni.

Oaia este foarte rezistentă. Inocularea germenilor virulenți pe cale subcutană poate duce la constituirea unui abces și apoi a unui ulcer vindecabil; generalizarea bolii constituie o excepție.

Porcul se infectează foarte greu; totuși, inoculările intravenoase masive pot provoca uneori leziuni morvoase.



Bacterium mallei

Frotiu din lichid peritoneal de cobai infectat experimental. Coloraţie: albastru de metilen (desen: *Cerni*)

Bovinele nu se infectează spontan, iar infecţia experimentală nu reuşeşte decît excepţional. Riegler şi Ciucă (1905) obţin la o vacă, o morvă evolutivă, cu simptome şi leziuni asemănătoare morvei cabalinelor. In acest scop, autorii au folosit o tulpină a cărei virulenţă a fost exaltată prin treceri succesive pe iepure. Vaca a fost inoculată, pe cale intravenoasă, cu a cincea parte dintr-o cultură pe agar, după ce în prealabil fusese injectată în repetate rînduri, pe aceeaşi cale cu bacili morţi. Rezultate asemănătoare obţine şi Negomireanu (1913).

Găina este refractară şi chiar dozele masive şi repetate rămîn fără rezultat.

Cobaiul, dintre animalele de experienţă, este cel mai sensibil. Inocularea intraperitoneală a cobailor masculi provoacă apariţia unor simptome şi leziuni caracteristice. Infecţia se poate face şi pe alte căi — subcutanǎ, intramusculară, intrapleurală — recurgînd însă la cantităţi mai mari de germeni.

Iepurele poate fi infectat cu bacilul morvei, doza minimă infectantă fiind însă mai mare ca pentru cobai. O tulpină care omoară regulat cobaiul cu 10^{-2} mg nu omoară iepurele, pe cale intravenoasă, decît în doză de 1 mg. Doza de 5 mg de bacili, din aceeaşi tulpină, omoară iepurele în 12—26 de ore, cu diaree profuză. Aceeaşi doză a unor tulpini mai virulente omoară iepurele în cîteva ore cu hemoculturi pozitive (Nicolle, 1906, 1907).

Şoarecele se infectează atunci cînd este inoculat cu doze mari de germeni: 10^{-1} mg de bacili virulenţi, inoculaţi pe cale intraperitoneală, omoară regulat şoarecele. Şoarecii inoculaţi subcutan, cu bacili de virulenţă ridicată, mor în 5—9 zile. Tulpinile îşi exaltează virulenţa, prin treceri, ajungînd să omoare animalul în 3—4 zile.

INFECŢIA MORVOASĂ NATURALĂ

Arie geografică. In antichitate, ca şi în timpurile moderne, morva a fost răspîndită pe întinse teritorii, provocînd numeroase victime printre cabaline şi oameni. Se admite că Atilla a renunţat să ocupe Parisul (Luteţia) din cauza epizootiei de morvă care i-a distrus cavaleria. In timpurile noastre, în urma descoperirii agentului etiologic şi a mijloacelor precise de diagnostic, aria geografică a morvei s-a restrîns din ce în ce mai mult. Ea este absentă în U.R.S.S. şi majoritatea ţărilor europene. Cazuri rare, sub 1 000 de cazuri anual, se mai semnalează încă în ţara noastră. In ţările Orientului Apropiat morva este încă foarte răspîndită şi după unele statistici 20% din efectivul cabalin este infectat. După unele date publicate de Ching-Scheng, în 1948, 50% din caii armatei chineze reacţionau la maleină.

Materialul infecţios. Solipedele bolnave constituie izvorul principal de infecţie; ele elimină germenii prin diverse secreţii şi, în special, prin jetajul nazal. Materiile fecale, urina, nu conţin germenul decît excepţional. Sîngele nu este infectant decît în formele acute, septicemice.

Poarta de intrare. Numeroase cercetări experimentale au dovedit că infecţia naturală se face, în mod obişnuit, pe cale digestivă. Renault (1891), Nocard (1894—1897), Riegler, Hutyra, Schütz şi alţii au reuşit să infecteze caii pe această cale. Germenii erau administraţi fie cu apa de băut, fie cu alimente, fie în capsule de gelatină. În acest din urmă caz era exclusă pătrunderea infecţiei pe căile respiratorii şi cele digestive anterioare. Diverse observaţii au arătat, de altfel, că adăparea cailor sănătoşi din acelaşi vas cu caii morvoşi duce la infecţia celor dintii. Hrana în iesle comune dă acelaşi rezultat. Consumarea apei infectate sau a furajelor mînjite cu material virulent — scurgeri nazale — constituie modul natural principal de infecţie pentru solipede. Pe alte căi şi în alte condiţii, infecţia se realizează mult mai greu. Caii sănătoşi care stau în grajduri cu caii infectaţi nu se îmbolnăvesc dacă nu consumă apă sau furaje din vase comune. Această constatare dovedeşte că pe cale respiratorie transmiterea bolii se face mai greu. Experimental, s-a putut constata că inocularea bacililor morvoşi virulenţi, pe cale traheală, nu produce infecţia decît la jumătate din animalele inoculate.

Bacilul morvei traversează mucoasele şi pielea aparent intactă. Depunerea culturii pe mucoase sau pe pielea depilată asigură infecţia. Prin strănut, animalele bolnave pot arunca germenii pe mucoasa nazală sau conjunctivală a cailor sănătoşi, putîndu-i astfel infecta. Experimental, la cobai, se poate obţine o morvă evolutivă prin depunerea unei picături de cultură pe mucoasa conjunctivală. Omul se comportă ca şi cobaiul, şi depunerea accidentală a culturii pe mucoasa conjunctivală produce infecţia, aşa cum s-a întîmplat în cazul lui Zalomit, descris de Riegler (1916). Soluţiile de continuitate ale pielii constituie porţi favorabile de intrare. Se citează, în literatură, numeroase cazuri de infecţie, la om, în urma autopsiilor făcute la animale morvoase. În ţara noastră, în acest fel, s-a infectat şi a murit, în 1904, Străulescu.

Specii receptive. Morva spontană se întîlneşte în mod obişnuit la cal, măgar, catîr şi om. Infecţia la om este de origine animală, deşi infecţiile interumane şi de laborator nu sînt excluse. La alte specii animale, morva constituie o raritate. Sînt totuşi semnalate şi astfel de cazuri. De exemplu, carnivorele se pot infecta consumînd carne crudă de la caii morvoşi. Popovici (1932) a semnalat şi descris o asemenea epizootie de morvă la leii unui circ. Animalele s-au infectat consumînd carne provenind de la caii morvoşi. Omul care a manipulat carnea şi a îngrijit leii s-a infectat şi el şi a murit.

Evoluţia infecţiei. Morva poate evolua acut sau cronic. Forma acută este mai frecventă la măgar decît la cal.

Catîrul face fie forme acute, fie cronice (Ghinea, 1921). Forma acută debutează de obicei cu simptome generale grave, jetaj nazal, febră, starea generală rea, şi este consecinţa unei infecţii masive cu bacili virulenţi şi a unei rezistenţe organice reduse. Perioada de incubaţie, în infecţiile experimentale, pe cale hipodermică este de 1—2 zile; ingestia bacililor provoacă apariţia primelor simptome după 3—5 zile. Perioada de incubaţie, în infecţia naturală, este de 2—4 săptămîni.

Jetajul nazal şi febra constituie, de regulă, primele manifestări ale infecţiei. Jetajul este în general unilateral, de culoare galbenă-gri, uneori sanguinolent. Pe mucoasa nazală apar, o dată cu jetajul, noduli, abcese morvoase, care se deschid, constituindu-se astfel ulcere cu marginile ne-

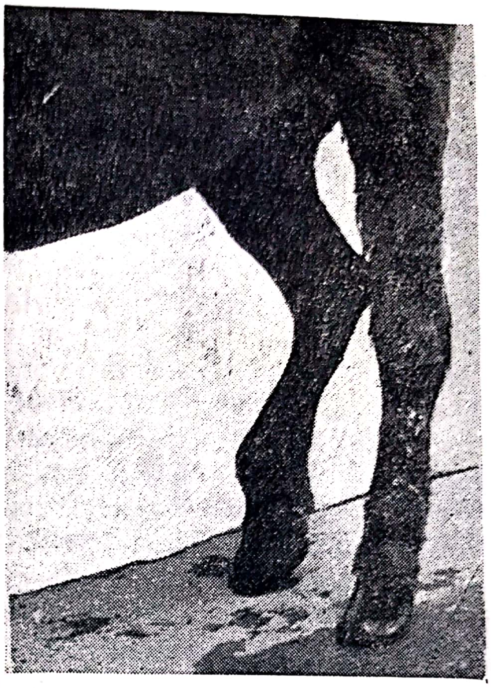


Fig. 52 — Limfangită morvoasă
Infecţie naturală

regulate. Ganglionii jgheabului sînt tumefiaţi în totalitatea lor sau numai în partea corespunzătoare mucoasei nazale inflamate. Leziunile cutanate pot fi prezente; ele constau, iniţial, din noduli, abcese închise, care conţin numai bacili morvoşi; nodulii abcedează, constituindu-se astfel ulcerele morvoase cutanate. Vasele limfatice din jurul ulcerelor se inflamează şi se îngroaşă; noi ulcere pot apărea astfel pe traiectul acestor vase. Ulcerele localizate la extremităţile membrelor duc la proliferarea ţesutului conjunctiv adiacent, putînd, uneori determina apariţia unui elefantiasis. Animalul infectat poate muri în cîteva săptămîni; sfîrşitul este grăbit dacă neîngrijirea, hrana insuficientă, munca excesivă, sînt asociate infecţiei.

În regiunile în care morva este enzootică ea poate evolua, frecvent, sub formă cronică. Leziunile şi simptomele pot fi iniţial puţin aparente sau pot lipsi cu desăvîrşire. Puterea de muncă a acestor animale nu este sensibil micşorată. Ele pot servi normal ani de zile, deşi dau reacţii pozitive la probele obişnuite de diagnostic. Infecţia, în acest caz, este reprezentată printr-un focar morvos latent. Acest focar, sub influenţa unor factori favorizanţi, poate deveni punctul de plecare a unei infecţii clinice.

Leucograma, în formele acute, se caracterizează printr-o scădere însemnată a numărului elementelor albe (polinucleare, limfocite şi monocite). Eozinofilele, în formele foarte grave, dispar cu desăvîrşire. În morva cronică, leucograma nu prezintă modificări.

La om, frecvenţa bolii este în relaţie cu frecvenţa ei la animale.

Durata şi tipul clinic al morvei la om sînt variabile. Străulescu s-a infectat, la autopsia unui cal morvos, la 7 februarie şi a murit la 8 martie 1904. Într-un accident de laborator (Zalomit), descris de Riegler (1916), infecţia s-a făcut la 14 mai, iar moartea a survenit la 4 iunie. Primele simptome în cazul Zalomit au apărut la 5 zile după infecţie şi au constat din febră şi stare generală rea. La 11 zile după infecţie apar primele erupţii, situate în regiunea costală pe care i se aplicau ventuze tăiate, în scopul de a trata o bănuită pleurezie. Erupţia cutanată, sub formă de plăci erizipelatoase, brune, se generalizează la 17 zile după infecţie. În ultimele zile temperatura a fost mereu ridicată, iar starea generală foarte rea, bolnavul prezentînd diaree profuză, delir şi halucinaţii.

În cazul Străulescu descris tot de Riegler (1904) simptomele au apărut la 17 zile după infecţie. Înainte de moarte bolnavul a prezentat icter grav şi a avut dureri atroce în muşchii profunzi, unde se constituise un abces morvos.

Modificări anatomice la solipede. În forme acute, leziunile sînt localizate, de obicei pe mucoasa căilor respiratorii în pulmon şi pe piele. Pe piele sau mucoase se constituie iniţial un abces (nodul) morvos. Pielea sau mucoasa care acoperă nodulul se necrozează, luînd, astfel, naştere şancrul morvos; acesta are marginile dinţate şi este acoperit cu o secreţie galbenă, filantă, numită ulei de farcin. El poate fi localizat pe mucoasa primelor căi respiratorii, pe faţa internă a coapselor, pe gît sau pe flancuri. Vasele limfatice din jurul şancrului, ca şi ganglionii aferenţi se tumefiază. Noduli şi ulcere morvoase se pot întîlni pe mucoasa traheală; ele se situează frecvent în zona de bifurcare a traheii.

În pulmon, bacilul morvei poate provoca fie leziuni nodulare, fie inflamaţii generale: pneumonii morvoase. Nodulii pulmonari pot îmbrăca, în raport cu vîrsta lor, trei aspecte, şi anume: noduli miliari de formaţie recentă, noduli vechi cu centrul necrotic şi noduli calcificaţi. Nodulii miliari sînt formaţii recente, de cîteva zile; ei prezintă un centru galben-gri şi o zonă exterioară roşie-închis sau gri. Centrul este constituit, în mare parte, din leucocite neutrofile. La periferia nodulului se găsesc leziuni exudative, congestive sau hemoragice. Partea centrală a nodulului — leziunea proliferativă — se necrozează cu timpul, iar inflamaţia periferică, iniţial acută, se transformă într-una cronică, ţesutul granular şi conjunctiv luînd locul leziunilor exudative. Nodulul necrozat se poate calcifica (Riegler, 1905). În afară de leziuni nodulare se pot găsi pneumonii celulare sau celulare şi fibrinoase, gelatinoase, precum şi pneumonii indurative cronice, bronhopneumonii, bronşite purulente sau peribronşite.

Noduli şi leziuni morvoase se pot găsi şi în alte organe; se semnalează, astfel, destul de frecvent, noduli în splină şi ficat; în rinichi nodulii se găsesc rar şi sînt de obicei calcificaţi. Colecţii morvoase purulente s-au găsit în creier, testicule, uger, suprarenală, musculatură etc. Leziunile morvoase lipsesc, aproape todeauna, de pe mucoasa intestinală.

Diagnosticul morvei. Morva poate fi diagnosticată prin examenul clinic atunci cînd evoluează acut şi cu manifestări caracteristice. Infecţia poate avea, adeseori, o simptomatologie nespecifică sau evolua asimptomatic. Diagnosticul precoce al acestor din urmă forme prezintă cea mai mare importanţă din punct de vedere profilactic şi nu se poate face decît prin mijloace speciale de investigaţie.

În general, în diagnosticul morvei se folosesc metode bacteriologice, experimentale, serologice şi alergice.

Examen bacteriologic. Examenul microscopic al leziunilor deschise, ulcere, jetaj nazal, nu poate da, în general, nici o indicaţie precisă, bacilii morvei, chiar dacă sînt prezenţi, nu pot fi deosebiţi morfologic de alte bacterii Gram negative. Culturile făcute din asemenea leziuni nu sînt niciodată pure, flora secundară le acoperă şi împiedică dezvoltarea agentului specific. Frotiurile şi mai ales culturile din nodulii cutanaţi închişi dau rezultate mai precise. Însămînţările, din asemenea leziuni, făcute în bune condiţii, permit izolarea bacilului în culturi pure. Identificarea tulpinii izolate se face prin examenul caracterelor morfologice, culturale, serologice și de patogenitate.

Inocularea materialului suspect, la animalele de experiență, constituie un prețios mijloc de diagnostic. Secrețiile leziunilor morvoase deschise, ca și culturile infectate se inoculează în acest scop, la cobai, pe cale subcutană. Dacă materialul inoculat conține bacili se produce un abces la locul de inoculare și tumefacția ganglionilor regionali. Generalizarea și moartea survin în 2—6 săptămîni, la autopsie găsindu-se leziuni în splină, mai rar în ficat și pulmon. Tulpina se poate izola după moarte, sau de preferință în timpul vieții, din ganglionii regionali, care în acest scop sînt extirpați scurt timp după inflamarea lor. Culturile pure, ca și materialul conținut în leziunile neinfectate se inoculează — în vederea identificării bacilului prin mijloace experimentale — pe cale intraperitoneală la cobaii masculi. Evoluția și leziunile produse sînt, în acest caz, caracteristice. Bacilii se localizează pe seroasa testiculară, provocînd inflamația regiunii. Tumefacția regiunii testiculare apare după un timp variabil; bacilii virulenți, în doze relativ mari, duc la inflamația seroasei în 2—3 zile; dozele mici de bacili virulenți sau doze mari de bacili atenuați fac ca inflamația să apară după 1 săptămînă sau mai mult. Scrotul, la începutul procesului inflamator, este roșu, pentru a deveni mai tîrziu, cianotic. În această fază animalul poate fi sacrificat, în punga testiculară găsindu-se o secreție purulentă care nu conține decît bacilii morvei.

Orhita morvoasă, la cobai, poate evolua acut sau subacut. În forma acută, testiculele sînt fixate în bursă, după 2—3 zile de la inoculare. Această fixare se accentuează în zilele următoare, testiculul nemaiputînd trece din bursă în cavitatea peritoneală. Inflamația seroaselor crește de la o zi la alta. Moartea poate surveni în cursul acestui proces. Dacă întîrzie, atunci apar, pe suprafața scrotului, pustule și plăci livide, care se necrozează, constituind escare morvoase. În orhita morvoasă subacută inflamația învelitorilor este mai puțin accentuată. În bursă, se constituie colecții purulente care abcedează. Supurația nu este de lungă durată, orificiile create putîndu-se închide. Moartea poate surveni tîrziu prin intoxicare și cașectizare. În acest caz, leziunile testiculare lipsesc. Testiculul, în cursul procesului inflamator, se atrofiază și dispare. Pe lîngă forma scrotală a bolii s-au descris și una ectopică. Această formă se datorește faptului că testiculul cobaiului trece cu ușurință din bursă în cavitatea peritoneală și invers, și uneori el poate fi prins de fenomenul inflamator în cavitatea peritoneală. Inflamația morvoasă este totdeauna, inițial, localizată pe seroasa mușchiului testicular, situat la intrarea în bursă, în canalul inguinal. Această inflamație împiedică testiculul să facă naveta lui obișnuită, prin închiderea canalului inguinal. În bursă se poate însă constitui o colecție purulentă care simulează testiculul.

Orhita cobaiului nu este produsă strict, numai de bacilul morvei, ci și de alți germeni, cum sînt *Corynebacterium pseudotuberculosis, Pseudomonas aeruginosa, Bacterium pseudomallei* Whitmore etc. Reacția testiculară a lui Straus nu are deci o valoare absolută, deoarece nu toate orhitele la cobai sînt produse de bacilul morvei. Această reacție, trebuie deci completată cu examinarea tulpinii izolate.

La cobai, masculi sau femele, inocularea unei doze masive de bacili virulenţi provoacă pe cale intraperitoneală o peritonită acută, mortală în 24—36 de ore. La autopsie, în cavitatea peritoneală se găsesc un lichid galben-citrin bogat în bacili şi depozite fibrinoase pe seroasa aceleiaşi cavităţi. Femelele sînt mai rezistente ca masculii faţă de infecţia morvoasă intraperitoneală. Aceste diferenţe sînt datorite sensibilităţii deosebite a seroasei testiculare faţă de bacilul morvei. O dovadă o constituie faptul că masculii castraţi se comportă faţă de infecţia morvoasă intraperitoneală ca şi femelele.

Examenul serologic. Toate reacţiile serologice — aglutinarea, precipitarea, conglutinarea, fixarea complementului — au fost folosite pentru diagnosticul morvei. Aplicaţii practice mai largi s-au dat însă reacţiilor de seroaglutinare şi de fixare a complementului.

Seroaglutinarea. Suspensiile antigenice se prepară din tulpini sensibile faţă de aglutinine şi care nu aglutinează spontan. Tulpinile păstrate mult timp în laborator sînt puţin aglutinabile; prin pasagii pe organismul animalelor sensibile — cobai — ele îşi recapătă însă sensibilitatea iniţială. Bacilii din suspensiile antigenice se omoară prin căldură, 2 ore la 60°C. Serul suspect se diluează de la 1/100 la 1/2 000 în antigen. Reacţia se citeşte după 24—36 de ore la 37°C. Aglutinarea suspensiei, la o diluţie a serului de 1/1 000 sau mai mult, trebuie interpretată ca o reacţie pozitivă; reacţia este dubioasă atunci cînd aglutinarea se face la titrul de 1/500 — 1/800 şi este negativă cînd suspensia nu este aglutinată peste diluţii de 1/500.

Aplicarea reacţiei de seroaglutinare, la solipedele sigur morvoase, a arătat că titrul aglutinant al serului aceluiaşi animal prezintă importante variaţii. Aceste variaţii se explică prin fluctuaţiile în intensitate ale procesului morbid; stingerea focarului inflamator corespunde unei diminuări a titrului aglutinat, în timp ce reactivarea lui duce la o mărire a concentraţiei anticorpilor în sînge. Avînd în vedere fluctuaţiile titrului aglutinant al unui ser, se recomandă ca reacţia de aglutinare să se repete de 2—3 ori pe acelaşi animal, la intervale de 2—3 săptămîni. Animalele cu leziuni deschise au un titru aglutinant ridicat. Seroaglutinarea se poate aplica şi în diagnosticul morvei la om; serul oamenilor morvoşi aglutinează suspensiile la diluţii variind de la 1/1 000 la 1/2 000.

Seroaglutinarea pierde din valoarea sa diagnostică în urma maleinizării animalelor. Maleina, care conţine bacili morţi, precum şi produsele de dezintegrare a bacililor, injectate în piele sau sub piele, provoacă apariţia de aglutinine specifice.

Bacilul morvei are antigeni comuni cu bacilul piocianic şi bacilul Whitmore (Legroux şi Blanc, 1943). Această înrudire poate uneori modifica rezultatele şi trebuie luată în consideraţie atunci cînd se practică un diagnostic şi mai ales cînd se determină specia căreia aparţine o bacterie.

Reacţia de fixare a complementului (R.F.C.) este de o mare precizie în diagnosticul morvei. Condiţia esenţială pentru a obţine rezultate valabile este folosirea unui bun antigen. Suspensiile obţinute prin spălarea culturilor de pe suprafaţa mediilor nu sînt totdeauna bune fixatoare. Pentru a pune în libertate antigenul fixator se recomandă dezintegrarea celulei bacteriene, ceea ce se poate realiza în diferite chipuri. Iată un asemenea mod: se adaugă, pe suprafaţa culturilor pe agar glicerinat, vechi de 48—72 de ore, cloroform; după 24 de ore, cînd germenii sînt morţi, cloroformul se îndepărtează prin decantare şi cultura se spală cu apă fiziologică. Suspensia este supusă apoi la îngheţuri şi dezgheţuri succesive, după care germenii se elimină prin filtrare, iar filtratul este folosit ca antigen.

Reacţia de fixare a complementului este specifică; diversele afecţiuni pulmonare ale cabalinelor nu pot falsifica rezultatele. Maleinizările intradermice sau subcutane duc însă la formaţia de anticorpi fixatori; anticorpii în acest caz apar după 4—8 zile şi dispar după 40—50 de zile de la efectuarea reacţiei. În unele forme de morvă R.F.C. este superioară probelor alergice. Kujumgiev (1948) afirmă că în cazurile de morvă cutanată reacţia alergică poate fi negativă în timp ce R.F.C. este intens pozitivă.

Reacţia de hemaglutinare (Middlebrook-Dubos) a fost folosită în diagnosticul morvei de Jager (1954), precum şi de Munţiu şi colaboratorii (1955). Sensibilizarea globulelor roşii se poate face cu extracte bacilare apoase sau cu antigenul glucido-polipeptidic.

Reacţia de conglutinare (Bordet-Gay, 1906) ca şi *reacţia K.H.* (devierea complementului-hemoliză) (Pfeiller şi col. 1914) se pot folosi în diagnosticul morvei, dar aplicarea lor nu a fost niciodată generalizată în practică. Reacţia de conglutinare se face după o tehnică similară celei descrise la diagnosticul brucelozei.

Reacţia K.H. se face astfel: doze descrescînde din serul de cercetat în volum de 0,2 ml se amestecă cu ser normal şi proaspăt de cal (0,8 ml), cu antigen morvos 0,1 ml şi 0,8 ml ser fiziologic; tuburile sînt puse 15 minute la 37° şi apoi se adaugă în fiecare tub cîte 0,02 ml ser de bou inactivat la 54° şi cîte 1—2 picături dintr-o suspensie 1% de globule roşii de cobai. Citirea se face după o oră. Reacţia e pozitivă cînd hematiile sînt aglutinate şi negativă cînd ele sînt hemolizate. Hemoliza e produsă de alexina serului de cal care în absenţa anticorpului specific a rămas liberă şi împreună cu serul de bou a lizat hematiile. Aglutinarea e produsă de serul inactivat de bou. Reacţia se aplică în special pentru diagnosticul morvei la măgar şi catîr, specii al căror ser este anticomplimentar şi nu poate fi folosit deci pentru executarea reacţiei de fixare a complementului.

Maleinizarea constituie mijlocul cel mai practic de depistare a infecţiei morvoase. Ea se bazează pe sensibilitatea pe care o au animalele morvoase faţă de endotoxinele bacilare. Produsul alergisant, obţinut din bacilii morvei, poartă numele de maleină.

Prepararea maleinei. Germenii, în vederea preparării maleinei, sînt cultivaţi în bulion peptonat de cal şi glicerinat 5%. Se pot folosi şi alte medii (Kujumgiev, 1940). Durata incubaţiei la 37°C a mediilor însămînţate, în vederea obţinerii maleinei este variabilă. Unii cercetători incubează culturile cîteva luni (Vladimiroff 8 luni), alţii doar cîteva zile (Bang 8 zile, Sacharoff 3—6 zile). Cercetările lui Vehse au arătat însă că

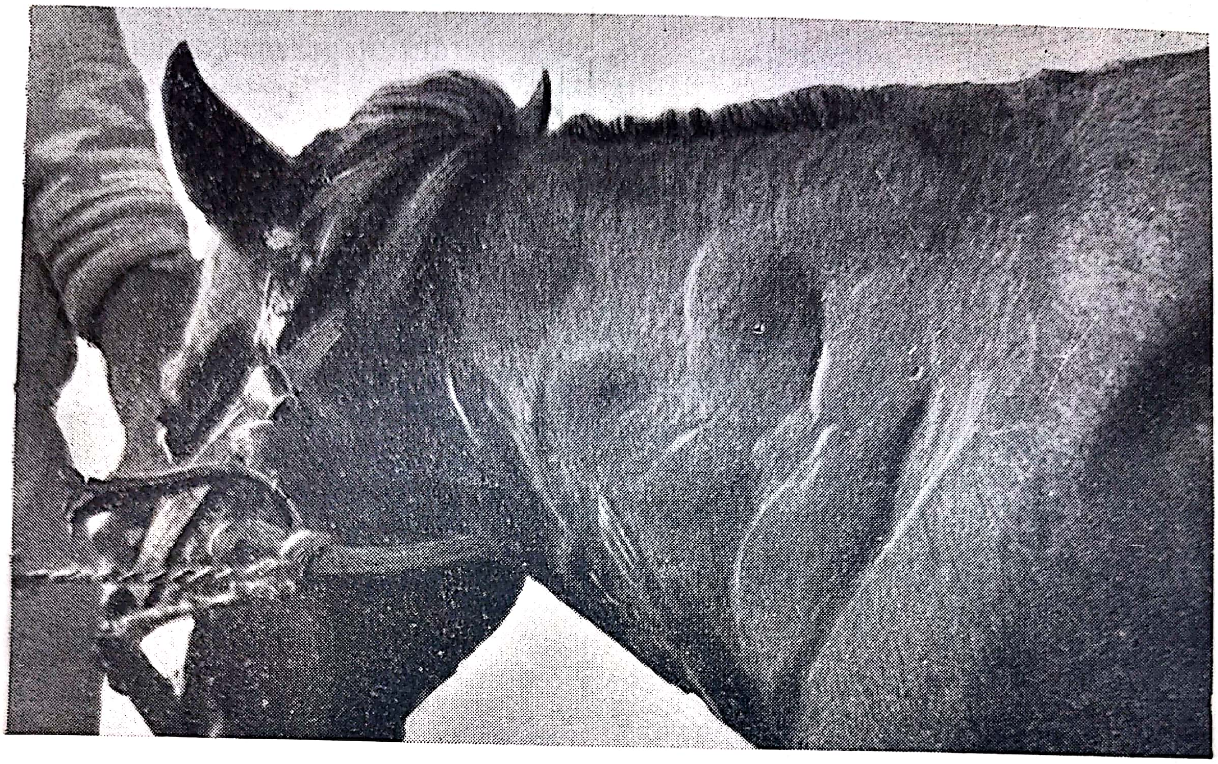


Fig. 53 — Reacţii locale la un cal morvos prin inocularea diverselor diluţii de extract nucleoproteinic de *Bacterium mallei*
stînga sus — reacţia provocată prin injectarea diluţiei de 1/50 extract;
stînga jos — reacţia provocată prin injectarea diluţiei de 1/800 extract

produsul cel mai activ se obţine din culturi de 3 săptămîni. Valoarea produsului este condiţionată, într-o mare măsură, de mediu, de gradul de dezvoltare a culturii şi durata incubaţiei. Cifrele asupra duratei incubaţiei nu trebuie deci interpretate mecanic. După dezvoltarea culturii, aceasta este omorîtă prin autoclavare şi fiecare balon este controlat microscopic, eliminîndu-se cele cu infecţia secundară. Cultura din baloanele care conţin numai bacilii morvei este evaporată, pe o baie de apă, la fierbere pînă ce volumul iniţial se reduce la $^1/_{10}$. Lichidul obţinut este sirupos, conţine 50% glicerină, are culoarea brună şi constituie maleina brută; el se repartizează în sticle, se sterilizează, conservîndu-se, astfel, un timp îndelungat (cîţiva ani) la rece şi la întuneric.

În afară de maleină, preparată aşa cum s-a arătat mai sus, se mai pot folosi ca alergeni şi alte produse. Astfel, antigenul glucido-lipido-polipeptidic (Munţiu şi col., 1953), complexul nucleoproteinic (Stamatin şi col., 1952) dau reacţii specifice la caii morvoşi. Parnas şi Stepkovski (1952) prepară un produs alergisant în felul următor: bacilii se suspendă în apă distilată, se îngheaţă şi dezgheaţă de 50 de ori şi apoi totul se autoclavează la 120°C. Rafyi şi Chamsy Mir (1952) obţin un produs alergisant prin hidroliza bacililor cu acid clorhidric.

Folosirea maleinei în practica diagnosticului morvei trebuie să fie precedată de o titrare a produsului. Determinarea valorii reactive se face, în cele mai bune condiţii, pe cabaline morvoase. S-a mai recomandat, tot ca o metodă de titrare, reacţia de fixare a complementului, determinîndu-se în acest caz capacitatea maleinei de a fixa alexina în prezenţa unui ser morvos cunoscut. Metoda însă este mai puţin precisă.

Maleina brută, ca şi maleina uscată, este un produs toxic. Maleina brută, inoculată în doză de 30—50 ml, pe cale intravenoasă, omoară un cal sănătos, care suportă însă perfect pe aceeaşi cale 1—2 ml. În această din urmă doză, maleina produce însă manifestări grave şi chiar moartea unui cal morvos. Maleina este deci mult mai toxică pentru animalele morvoase decît pentru cele sănătoase. S-au recomandat mai multe procedee de diagnostic al morvei, cu ajutorul maleinei, din care unele au intrat în practică curentă.

Proba oftalmică constă din instilarea cîtorva picături de maleină brută sau diluată $^{1}/_{4}$ într-unul din sacii conjunctivali. La animalele indemne nu se produce nici o reacţie vizibilă ; cel mult se poate observa, îndată după efectuarea probei o uşoară lăcrimare, care dispare complet în cîteva ore. La caii morvoşi, 5—7 ore după instilarea maleinei se instalează un proces inflamator, care se accentuează în primele 24—48 de ore, pentru a dispare după 2—3 zile. Procesul constă din tumefierea şi congestia pleoapelor, lăcrimare abundentă şi, eventual, constituirea unei secreţii muco-purulente. Starea generală a animalului nu este în general alterată de acest proces, deşi uneori, se poate constata o uşoară ascensiune termică, de obicei o jumătate de grad deasupra temperaturii normale.

Proba intradermică sau intradermo-palpebrală. Injectarea maleinei în dermul pleoapei sau în dermul pielii din altă regiune produce la animalele morvoase reacţii tipice. Reacţii tipice se obţin şi cînd se depune maleina pe pielea scarificată ; în acest scop, pe pielea rasă se fac trei scarificaţii, din care două se pensulează cu maleină, a treia servind ca martoră. La animalele morvoase se produce o tumefiere a regiunii scarificate şi pensulate cu maleină ; la animalele sănătoase nu se observă diferenţe între scarificaţiile tamponate cu maleină şi cea martoră. Reacţii asemănătoare se obţin şi prin inocularea intradermică a maleinei. La caii morvoşi se obţin reacţii caracteristice inoculînd în dermul pleoapei inferioare 0,1 ml de maleină dintr-o soluţie diluată $^{1}/_{4}$ în apă distilată fenolată 0,5%. Tumefierea pleoapei injectate devine vizibilă după 10 ore de la injecţie şi se accentuează în primele 24—48 de ore ; inflamaţia poate fi limitată la pleoapa injectată sau se poate întinde şi cuprinde tot ochiul, fiind însoţită de lăcrimare şi chiar de constituirea unei secreţii muco-purulente. Injectarea maleinei în dermul pielii din alte regiuni produce tumefacţii de mărimi variabile.

Proba subcutană oferă date obiective pe baza cărora se poate pune un diagnostic sigur de morvă. Proba se face cu maleina brută, diluată $^{1}/_{8}$, în apă distilată şi fenolată 0,5% ; diluţia se injectează, pe cale subcutană, pe o parte a gîtului, în doză de 2 ml. Animalele morvoase prezintă în urma acestei administrări tulburări manifeste, locale şi generale. Local se formează o tumefacţie de dimensiuni importante, 20 cm în diametru sau mai mult ; în jurul tumefacţiei se pot desemna cordoane limfatice. Tulburările generale constau din abatere, lipsa poftei de mîncare şi, semnul cel mai important, o stare febrilă accentuată şi cu o evoluţie caracteristică. Curba termică la animalele morvoase, maleinizate pe cale subcutană are o formă tipică şi pe ea ne sprijinim, în special, la punerea diagnosticului. Proba subcutană nu se poate, în consecinţă, aplica decît la animale fără febră. Pentru a ne asigura că animalul pe care vrem să-l supunem acestei probe nu prezintă variaţii termice, îi măsurăm temperatura zilnic, cu 3 zile înainte de a face injecţia de maleină, sau cel puţin în ziua injecţiei, de patru ori, şi anume: la orele 7, 12, 18 şi 22. Temperatura, la aceste măsurători, nu trebuie să depăşească 38,0°C, căci numai în acest caz animalul poate fi injectat; injecţia se face la ora 22; a doua zi temperatura se ia din 2 în 2 ore, începînd cu ora 6 şi sfîrşind cu ora 22; a treia zi temperatura se ia de trei ori, şi anume la orele 6, 12 şi 18. O dată cu temperatura se numără pulsul şi respiraţia. Reacţia este pozitivă şi animalul declarat morvos cînd a doua zi după maleinizare temperatura se menţine ridicată în platou şi maxima atinsă depăşeşte cu cel puţin 2°C temperatura normală; reacţia este considerată pozitivă şi în cazul cînd depăşeşte normalul numai cu 1,5°C dacă este însoţită de o puternică reacţie locală şi generală. Reacţia este atipică atunci cînd febra este intermitentă şi durează puţin timp, 4—6 ore; este negativă cînd temperatura nu depăşeşte normalul cu mai mult de 1°C.

Proba subcutană este de o aplicaţie greoaie; pentru acest motiv, ea nu se execută decît la animalele despre care sînt indicii că sînt infectate cu bacilul morvei; aceste indicaţii ni le poate furniza examenul clinic şi mai ales probele oftalmice sau intradermice de maleinizare.

Pentru eradicarea morvei, în mod practic, în regiunile cu morva enzootică tot efectivul cabalin este supus, cel puţin o dată pe an, la operaţia de maleinizare oftalmică sau intradermică. Animalele, care dau rezultate pozitive la una din aceste probe, sînt maleinizate pe cale subcutană. Se recomandă ca în regiunile cu morvă enzootică simultan cu proba oftalmică sau intradermo-palpebrală să se recolteze sînge pentru examen de laborator (reacţia de fixare a complementului). Diagnosticul se pune pe baza examenului de laborator şi a reacţiei alergice. Animalele găsite bolnave se sacrifică. Grajdul în care a existat un cal morvos se dezinfectează, iar restul cabalinelor rămîn în observaţie 3 luni de zile, în care timp se execută trei maleinizări, la 1 lună interval, una de cealaltă. Atunci cînd nu se mai obţine nici o reacţie pozitivă, la aceste trei probe animalele sînt scoase de sub observaţie ca indemne de morvă.

Specificitatea reacţiilor alergice. Reacţiile la maleină au un grad însemnat de specificitate, adică o reacţie pozitivă corespunde în imensa majoritate a cazurilor unei infecţii, iar una negativă, absenţei infecţiei. Totuşi, sînt şi excepţii la această regulă. Astfel, mînjii sub 6 luni, nu reacţionează la maleină, chiar dacă sînt infectaţi.

Diagnosticul după moarte se sprijină, de cele mai multe ori, numai pe examenul modificărilor anatomice. Cînd acestea nu sînt tipice, nodulii pulmonari, de exemplu, pot fi confundaţi cu nodulii parazitari, care sînt destul de frecvenţi în acest organ (Riegler, 1905), se caută prin culturi şi inoculări la animale de experienţă să se pună în evidenţă bacilul morvei. Culturile din leziuni suspecte de morvă se fac pe cartof sau agar glicerinat. Animalele se inoculează cu suspensii rezultate din triturarea leziunilor. Inoculările se fac pe cale subcutană, cînd materialul este alterat și pe cale intraperitoneală, cînd nu conțin alți germeni.

Profilaxie și tratament. Imunizarea activă sau pasivă a animalelor sensibile față de bacilul morvei neputîndu-se realiza, profilaxia bolii constă din descoperirea și distrugerea animalelor infectate. Maleina și reacțiile serologice permit, în mod practic, diagnosticul tuturor formelor de boală. Animalele găsite bolnave trebuie sacrificate. Aplicarea acestor două metode a făcut ca morva, care înaintea erei bacteriologice era destul de răspîndită, să dispară complet din multe țări. În alte țări morva mai există încă, ceea ce se datorește, în mare parte, faptului că animalele morvoase nu au fost depistate și sacrificate în totalitatea lor.

Sulfamidele pot fi folosite pentru a preveni infecția. Astfel, animalele care au cohabitat cu un cal morvos și care nu reacționează la maleină se supun unui tratament sulfamidic ceea ce are drept rezultat sterilizarea organismelor care eventual se găsesc în perioada de incubație. Același tratament se poate aplica și cabalinelor care au trecut printr-o regiune mult contaminată și la care eventualitatea unei infecții cu bacilul morvei nu poate fi exclusă. Tratamentul preventiv durează 5—10 zile ; dozele zilnice în primele 5 zile vor fi 0,2, 0,5, 0,13, 0,12 și 0,11 g pe kilocorp, apoi pentru zilele următoare cîte 0,10 g pe kilocorp. Doza zilnică se administrează în patru reprize, la 6 ore interval și per os (în mîncare) (Munțiu).

Tratamentul morvei la animale este mai mult o problemă științifică decît una practică. Tratamentul animalelor morvoase este legat de atîtea pericole pentru omul care îl face, încît chiar dacă ar reuși și încă nu ar fi de încercat. Experimental, s-au făcut în această direcție numeroase încercări. Astfel, diverși autori au încercat să trateze morva cu maleină injectată în repetate rînduri și Helman afirmă că a obținut în acest chip unele rezultate. La fel, din observațiile făcute de Babeș și Motoc (1892) rezultă că maleina influențează favorabil evoluția leziunilor de morvă. În același sens, Babeș, Riegler și Podașcă (1894—1895) au constatat că serul măgarilor tratați, în repetate rînduri cu maleină previne și chiar vindecă morva la cobai. În literatură s-au semnalat cazuri de vindecare spontană a morvei la cabaline și Sachelarie (1922) relatează asemenea cazuri. Munțiu și colaboratorii (1955), folosind sulfamidele, au obținut rezultate pozitive la măgarii infectați experimental, cît și la cai cu infecție spontană. Tratamentul, la asinii infectați experimental a durat 20 de zile. În primele zile, sulfamidele s-au administrat pe cale intravenoasă, în doză zilnică de 0,2—0,1 g pe kilocorp, apoi pe cale digestivă, sulfamidele administrîndu-se fie cu sonda nazo-esofagienă, fie în hrană concentrată (tărîțe cu uruială). Tratamentul morvei spontane trebuie să dureze minimum 25 de zile, continuu sau în reprize de 10 zile, cu 5 zile repaus. Dozele în primele 5 zile descresc în modul următor : 0,2, 0,18, 0,16, 0,14 și 0,12 g pe kilocorp ; în zilele următoare se administrează o doză constantă de 0,10 g pe kilocorp. Doza zilnică se administrează per os în patru reprize.

Rezultate bune în terapia morvei spontane a obținut și Zaharija și Kralj (1952).

Tratamentul cu sulfamide poate fi asociat cu injecții de maleină sau alte extracte din bacilii morvoși, știut fiind că aceste produse, așa cum reiese din cercetările lui Helman (1891) și ale lui Babeș și colaboratorii (1892), influențează favorabil evoluția morvei. Fathi și colaboratorii (1953) asociază în tratamentul morvei spontane sulfadiazina cu anamorva, iar Munțiu și colaboratorii (1955) în tratarea morvei experimentale, sulfatiazolul cu extractul glucido-lipidic.

Tratamentul morvei umane a fost încercat de numeroși cercetători, dar rezultatele au fost, pînă la descoperirea sulfamidelor și antibioticelor, negative. După această dată, Munțiu (1943) a arătat că morva experimentală a cobaiului poate fi vindecată de unele sulfamide (sulfatiazol). Autorul însuși, în timpul manipulării culturilor, pare că s-a infectat, și aplicînd preventiv sulfamidoterapia nu a constatat apariția vreunui simptom.

Rezultate similare au obținut Soriano și colaboratorii (1946), Calderon și Miller (1947), Selvi și Paykok (1949), Falisevac și Bezjac (1950), Ansary și Minou (1951), Eghba și colaboratorii (1953). Dozele de sulfamide folosite la om sînt mai reduse ca la cal (0,12 g pe kilocorp în prima zi și apoi dozele descresc progresiv pînă la 0,6 g pe kilocorp).

In vitro, bacilul morvei este foarte sensibil față de acțiunea bacteriostatică și bactericidă a sulfatiazolului (Munțiu și Nemțeanu 1952). Penicilina este puțin activă atît in vitro, cît și in vivo (Isopescu și col. 1948). Sîrmon și Marica constată că, in vitro, penicilina, în concentrație de 500 U. I. pe 1 ml, deci într-o concentrație ridicată are acțiune inhibantă. Aceiași cercetători s-au ocupat și de activitatea altor antibiotice in vitro. Astfel, ei constată că streptomicina și aureomicina, în concentrație de 1—3 gama pe 1 ml inhibă dezvoltarea bacilului morvei în bulion glicerinat dacă însămînțarea nu este prea abundentă. In concentrație de 5 gama aceste antibiotice inhibă dezvoltarea bacilului, chiar dacă însămînțarea este abundentă (100 milioane de germeni). Cloromicetina se comportă la fel. Sulfatiazolul este inhibant, in vitro, în concentrație de 1 gama pe 1 ml, dacă cantitatea de germeni însămînțată este foarte mică (cîțiva bacili). Nitrofuranul este inhibant în concentrație de 100 gama pe 1 ml de mediu.

Tabelul 34

Activitatea diverselor chimioterapice in vitro și in vivo asupra bacilului morvei (după Munțiu)

Denumirea substanței	Acțiunea asupra bacilului		Autorii care au determinat-o
	in vitro	in vivo	
Sulfatiazolul	+++	+++	Munțiu (1943)
Sulfadiazina	+++	+++	Calderon și Miller (1947)
Penicilina	—	—	Miller și col. (1948)
Streptomicina	+++	±	Miller și col. (1948)
Aureomicina	+++	±	Miller și col. (1948)
Sulfamerasina	±	±	Miller și col. (1948)
Streptomicina	++	±	Miller și col. (1948)
Sulfanilamida	±	±	Miller și col. (1948)
Teramicina..............	+++	±	Eghbal și col. (1953)
Cloromicetina	++	±	Eghbal și col. (1953)

Explicația semnelor: +++ = intensă; ++ mijlocie; ± = slabă

Antibioticele, singure sau în asociaţie cu sulfamidele, s-au folosit de asemenea în tratamentul morvei la om. Astfel, Akman (1953) observă că un om care avea două abcese morvoase, neînsoţit de adenopatie şi febră, s-a vindecat în urma administrării streptomicinei şi aureomicinei; zilnic cîte 1 g de streptomicină şi 1 g de aureomicină, timp de 3 luni.

BIBLIOGRAFIE

AKMAN M. — Un caz de morvă la om, care a fost tratat cu aureomicină şi streptomicină. *Turk Jj. tecr. Biyol. Derg.*, 1953, 13, p. 227, *Reff. Bull. Inst. Pasteur,* 1955, 53, p. 667.

ANSARI M. şi MINOU M. — Două cazuri de morvă cronică umană tratate prin sulfamide. *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 81, p. 98.

BABEŞ V. — Asupra morvei sau răpciugei larvate sau latente. *Anuarul Institutului de patologie şi bacteriologie,* 1894—1895, vol. 6, p. 195.

BABEŞ V., RIEGLER P. şi PODAŞCĂ C. — Cercetări asupra acţiunii bacililor morţi ai morvei şi încercări de seroterapia morvei. *Anuarul Institutului de patologie şi bacteriologie.* 1894—195, vol. 6, p. 212.

BABEŞ V. — Observaţiuni asupra morvei. *Arch. Med. expérimentale,* 1891, 5, p. 619.

BABEŞ V. şi RIEGLER P. — Asupra toxinei morvoase. *Arch. de Sciences médicales,* 1897, p. 161.

BARBER C. şi MUNŢIU N. — Cercetări asupra bacilului morvei. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1952, 3, nr. 1—2, p. 191.

BROCQ-ROUSSEAU, FORGEOT şi URBAIN — Asupra formării anticorpilor în urma injecţiilor de maleină. *Ann. Inst. Pasteur,* 1921, 35, p. 879.

CALDERON H. şi MILLER W. — *Ann. of. Internat. Medicine,* 1947, 26, p. 93.

CANTACUZINO I. şi RIEGLER P. — Boala toxică provocată prin injecţia intrastomacală de bacili morvoşi omorîţi. *Ann. Inst. Pasteur,* 1907, 21, p. 194.

CHING-SCHENG — *J. Am. Vet. Ass.,* 1948, 112, p. 436.

EGHBAL M .şi col. — *Presse Médicale,* 1953, 61, p. 1535.

FALISEVAC I. şi BEZJAC I. — *Lizecniki vjesnic,* Zagreb, 1950, 72, p. 228.

FATHIK şi col. — *Arch. Inst. Hessarek,* 1953, 7, p. 22.

GHINEA I. — Contribuţii la studiul diagnosticului morvei la catîr prin maleină. *Arhiva veterinară,* 1921, 15, p. 97.

HELMAN CH. — Diagnosticul morvei prin inoculări subcutane a unor extracte obţinute din bacilii morvei. *Bot f. öffent. Veterinärwesen* (în limba rusă) 1891.

JÄGER A. — *Magyar állatorvosok lapja,* 1954, p. 53.

IONESCU AL. P. — Observaţiuni asupra combaterii morvei în jud Constanţa. *Arhiva Veterinară,* 1915, 12, p. 249 şi 279.

KALNING I. — Asupra diagnosticului morvei. *Arch. f. Veter. Wissensch* (în limba rusă), 1891.

KUJUMGIEV I. — Incercări de prepararea maleinei pe bulion de soia. *Rev. Patologia comparata,* 1940, p. 18.

KUJUMGIEV I. — Morva cutanată la cai în raport cu gradul de reacţii serologice. *Clinica Veterinaria,* 1948, 71, p. 65.

LEGROUX R. şi BLANC G. — Noi elemente de apropiere a bacililor morvei, whitmore şi piocianic. *Ann. Inst. Pasteur,* 1943, 69, p. 49.

MARAŞESCU D. — Intrebări asupra acţiunii curative a maleinei. *Arhiva Veterinară,* 1916, 13, p. 51.

MUNŢIU N. — Chimioterapia morvei cu sulfathiazol; acţiunea protectoare în infecţiile accidentale şi experimentale. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie,* 1943, 54, p. 145 şi 1948, 59, p. 634.

MUNŢIU N. şi NEMŢEANU ST. — Morva la animale şi om. Posibilităţile actuale de prevenire şi tratament. *Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie,* 1952, nr. 5, p. 34.

MUNŢIU N. şi col. — Hemoaglutinarea condiţionată prin diferite extracte de Malleomyces mallei. *Lucrările sesiunii ştiinţifice a Institutului Cantacuzino,* 1955, p. 194.

MUNŢIU N., VARACHIU N. şi NEMŢEANU ST. — *Comunicările Acad. R.P.R.* 1951, p. 1921.

NEGOMIREANU I. — Cercetări noi asupra morvei experimentale la bovidee. *Teză. Sc. sup. de Med. Vet.* Bucureşti, 1913.

NICOLLE M. — Studii asupra morvei experimentale la cobai. *Ann. Inst. Pasteur,* 1906, 20, p. 625, p. 698 şi p. 801 şi 1907, 21, p. 281.

PARNAS I. şi STEPKOVSKI — *Bull. of. Int. Epizooties,* 1952, 37, p. 45.

POPESCU N. şi POPESCU NICA I. — Intrapalpebro-reacţiunea şi cîteva consideraţiuni asupra maleinizării subcutanate şi conjunctivale. *Arhiva veterinară,* 1916, 13, p. 69, p. 113 şi p. 162.

POPOVICI I. — O enzootie de morvă la lei. *Arhiva veterinară,* 1932, 24, p. 1.

RAFYI A. şi CHAMSY MIR. — *Bull. of. Intern. Epizooties,* 1952, 37, p. 546.

RIEGLER P. — Cercetări bacteriologice în diagnoza morvei. *Teză la Şcoala superioară de medicină veterinară,* 1893.

RIEGLER P. — Moartea lui N. Străulescu. *Arhiva veterinară,* 1904, I, p. 75.

RIEGLER P. şi CIUCĂ AL. — Morva experimentală la bovine. *Arhiva veterinară,* 1905, 2, p. 53.

RIEGLER P. — Constantin E. Zalomit. *Arhiva veterinară,* 1916, 13, p. 185.

SACHELARIE V. — Două cazuri de morvă vindecate. *Arhiva veterinară,* 1922, 16, p. 15.

SAKAMOTO K. — Diagnosticul morvei prin precipitare cu aşa-numita substanţă solubilă specifică, obţinută din bacilul morvei. *Journ. of. Immunology,* 1930, 18, p. 331.

SELVI N. şi PAYKOK Z. — *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 1950, 142, p. 45.

SORIANO E. şi col. — *Med. Clin. Barcelona,* 1946, 26, p. 368.

STAMATIN N., BOGDAN L. şi CIRSTEŢ I. — Izolarea unor fracţiuni chimice din bacilii morvoşi. Activitatea lor toxică şi revelatoare. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1951—1952, 3, p. 31.

SÜREIA TAHASSIN — Titrarea maleinei. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten,* 1927, 32, p. 185.

ŢVETKOV şi CERNIAK — Sap (Morva). Moscova, 1947.

ZAHARIJA şi KRALJ M. — *Vet. Arch.* (jugoslavă), 1952, 23, p. 45.

ZAMFIRESCU I. — Maleina în diagnosticul morvei. *Arhiva veterinară,* 1906, 3, p. 22 şi 133, 1907, 4, p. 217.

Bacterium pseudomallei (Whitmore) nom. nov.

Sinonime: *Bacillus pseudomallei* Whitmore. 1913. *Bacillus whitmore*
Stanton și Fletcher, 1921
Numele comun: agentul melioidozei *(Melioidosis)*

Morfologie. Germenul se prezintă sub formă de bastonașe izolate sau în lanțuri scurte. În imaginile electronice, celulele prezintă fie o concentrare spre poli a masei citoplasmatice, fie granule lipoidice răspîndite în toată celula.

Este imobil și nesporulat.

Gram negativ. Se colorează după metoda Giemsa și cu toți coloranții bazici de anilină. Prezintă o colorație bipolară.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe mediile obișnuite, la pH = 7 și la temperatura de 36—38°C. Nu crește la temperaturi mai mici de 20°C. Tulbură bulionul și formează peliculă la suprafață. Formează colonii rotunde, opace, pe agar. Aceste colonii sînt inițial (după o incubație de 24 de ore) netede, dar devin mai tîrziu (48—72 de ore) aspre și cîteodată mucilaginoase. Acestea din urmă ating diametrul de 6 mm și se aseamănă cu cele produse de *Klebsiella pneumoniae* (Le Gac și col. 1954). Cultura pe cartof este abundentă și colorată ușor în galben-ciocolatiu.

Germenul este aerob facultativ.

Proprietăți biochimice. Fermentează, cu producție de acid, dar nu de gaze, unele substanțe hidrocarbonate. Lajudie și colaboratorii (1953), examinînd 41 de tulpini, constată că, în timp de 7 zile, toate au fermentat galactoza, numai 29 glucoza, 18 lactoza și maltoza, 31 rafinoza, 39 dextrina, 37 amidonul și inulina, 23 xiloza și 13 arabinoza. Toate tulpinile au fost inactive față de ramnoză, dulcită, glicerină și manită.

Nu produce indol.

Bacilul lichefiază gelatina și serul coagulat. Peptonizează laptele, dar nu-l coagulează. Hemolizează globulele roșii ale mamiferelor, dar cele de la păsări sînt rezistente. Produce catalază. Reduce albastrul de metilen. Poate folosi citratul de sodiu ca unică sursă de carbon.

Rezistență. Germenul este distrus în 10 minute la 56°C. În pămînt, la temperatura camerei, rezistă pînă la 27 de zile; în apă poluată pînă la 44 de zile; în fecale 27 de zile; în urină 17 zile și în cadavre putrefiate pînă la 8 zile. Sensibil față de antiseptice. Formolul 1% îl distruge în 24 ore la 4°C și în 2—3 săptămîni la —4°C.

Patogenitate. Germenul produce, în sudul Asiei (Birmania, Malaya, Malaezia, Indochina, Siom, Ceylon), la șobolani, cobai, iepuri și om, o infecție numită *melioidoză*, care, din punct de vedere anatomo-patologic, se caracterizează prin formarea unor focare necrotice cu zone mari de cazeificare în diverse organe: pulmon, ficat, splină și rinichi. Primele cazuri de melioidoză au fost identificate de Whitmore și Krishnaswami, în 1912, la om. În 1913, Fletcher descrie o epizootie de melioidoză la cobaii și iepurii laboratorului său din Malaya. Infecția la cal a fost întîlnită şi descrisă de Stanton şi colaboratorii în 1925. Epizootii au fost descrise la şoarecii şi şobolanii sălbatici, precum şi la cîini şi pisici, care se infectează consumînd carnea rozătoarelor bolnave.

Infecţia se transmite la om de către purtători-rozătoare; porcii, după Poddubski pot deveni purtători în urma consumului cadavrelor infectate.

Infecţia la om pare a se face pe cale digestivă; clinic ea evoluează ca o septicemie şi sfîrşeşte cu moartea într-un timp variabil, de la cîteva zile (formele acute), pînă la cîteva săptămîni (forma cronică). În forma acută, febra (39 şi 40,5°C) se instalează brusc şi este însoţită de vomismente, diaree, cefalee puternică, dispnee, delir şi stare comatoasă. Neutrofilia este pronunţată — 85—95%. La autopsie se găsesc noduli cazeoşi în ficat, splină, muşchi, oase, ţesut conjunctiv subcutan, vezică urinară, vezică biliară etc. Germenul este prezent în sînge, organe şi urină. Culturile, în vederea izolării germenului, este bine să fie făcute pe medii cu cristal violet (diluţie 1/200 000), pentru a inhiba dezvoltarea bacteriilor Gram pozitive. În condiţii experimentale, germenul este patogen pentru cobai şi iepuri. Cobaii infectaţi prin depunerea culturii pe mucoasele aparente fac o boală febrilă, însoţită de catarul mucoasei pe care s-a depus cultură şi de hipertrofia ganglionilor aferenţi. Animalul moare în 6—8 zile. În cazul inoculării culturii pe cale subcutană se produce intîi un focar inflamator local, apoi se constituie un ulcer, cu marginile profunde. Generalizarea infecţiei se face pe cale limfatică. Leziunea cutanată locală este urmată de limfangită şi hipertrofia ganglionilor aferenţi; ganglionii, în cele din urmă, abcedează. Moartea survine în 20 de zile. Cobaii masculi, injectaţi pe cale intraperitoneală, fac peritonită şi o orhită asemănătoare celei morvoase. Infecţia, la cobai, se poate obţine şi prin ingestie sau inhalaţie.

La iepuri, infecţia experimentală evoluează ca şi la cobai.

Şobolanii sălbatici, inoculaţi subcutan, fac un abces local, care se vindecă în 7—15 zile.

Germenul are antigeni comuni cu bacilul morvei şi cu bacilul piocianic. Dat fiind şi caracterele clinice ale infecţiei spontane sau experimentale, el a fost apropiat de bacilul morvei, deşi la cal nu provoacă decît o coriză trecătoare. Un antigen extras din bacilul lui Whitmore produce reacţii alergice la caii morvoşi (Lucenko, citat de Poddubski, 1955).

Infecţia la om se diagnostică prin examen clinic şi reacţii serologice, în special prin seroaglutinare. Hemaglutinarea pare a da şi ea rezultate pozitive. Într-adevăr, serul bolnavilor dă o reacţie pozitivă cu globule roşii de cal sensibilizate cu un extras obţinut prin tratarea suspensiilor bacteriene cu acid tricloracetic. În vederea diagnosticului, se recomandă, de asemenea, ca materialul patologic să fie inoculat la cobai (fricţionarea pielii scarificate).

Profilaxie şi tratament. Se recomandă, ca o importantă măsură profilactică, deratizarea. Nu există medicamente specifice. Este de presupus că sulfamidele pot da unele rezultate. Dintre antibiotice, cloramfenicolul are cea mai însemnată activitate bactericidă şi el trebuie să fie folosit în tratamentul bolii la om (Chambon și col. 1954). Aureomicina și streptomicina dau unele rezultate cînd sînt întrebuințate împreună, dar nu izolat.

BIBLIOGRAFIE

BRYGOO R. — Acțiunea bacilului lui Whitmore asupra hematiilor diverselor specii animale. *Ann. Inst. Pasteur,* 1952, 83, p. 413.

CHAMBON L. și col. — Studiu asupra sensibilității bacilului Whitmore față de antibiotice in vivo și la bolnavii atinși de melioidoză. *Bull. Soc. Path. Exot.,* 1954, 47, p. 139.

LE GAC P. și col. — Notă preliminară la studiul coloniilor mucoase ale bacilului Whitmore. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1954, 47, p. 41.

PODDUBSKI V. I. — Melioidaza. *Veterinaria,* 1955, nr. 11, p. 18.

WHITMORE A. — *J. Hyg. Camb.,* 1913, 13, p. 1.

Bacterium necrophorum Lehmann și Neumann, 1927

Sinonime: *Bacillus necrophorus* Flügge, 1886. *Bacillus diphteriae vitulorum* Flügge, *1886. Streptothrix cuniculi* Schmorl, *1891, Actinomyces necrophorus* Lehmann și Neumann, 1899. *Fusiformis necrophorus* Topley și Wilson, 1931. *Proactinomyces necrophorus* Krasilnikov. 1941.

Numele comun: bacilul necrozei sau bacilul lui Schmorl.

Bacilul a fost văzut în frotiuri, întîi de Löffler (1884) în leziunile difterice ale viteilor, dar Bang (1890) și mai ales Schmorl (1891) îl izolează în cultura pură și îl identifică ca agent al unei infecții, cu caracter enzootic, la iepuri. Schmorl studiază îndeaproape germenul și demonstrează patogenitatea sa pentru șoareci. Un studiu amplu asupra acestei specii bacteriene este făcut apoi de Césari (1912—1913).

Germenul este înrudit serologic cu bacteria care se izolează din angina umană Plaut-Vincent, și anume cu *Fusobacterium plautivincenti* sau *Fusiformis fusiformis.*

Morfologie. Germenul este foarte polimorf. În culturi se prezintă sub formă de bastonașe sau filamente, care prezintă din loc în loc îngroșări, umflături. Filamentele sînt în general foarte lungi, de la 20 la 700 microni (Lahelle, 1947). În materialul patologic, bacilul se prezintă de regulă sub formă de filamente scurte, 10—15 microni.

Se colorează cu culorile obișnuite. Filamentele din culturi nu prind însă uniform culoarea și zone palide alternează cu zone intens colorate.

Gram negativ. Nesporulat și necapsulat. Imobil.

Medii și caractere de cultură. Bacilul necrozei este anaerob și serofil. Se dezvoltă în bulion cu carne și ser și unele tulpini, dar nu toate, în geloză Veillon cu ser. Serul poate fi înlocuit cu sînge total sau extract de cartofi. Izolarea se poate face pe plăci cu agar, cu sînge și verde de malahit; inocularea mediului însămînțat se face în anaerobioză.

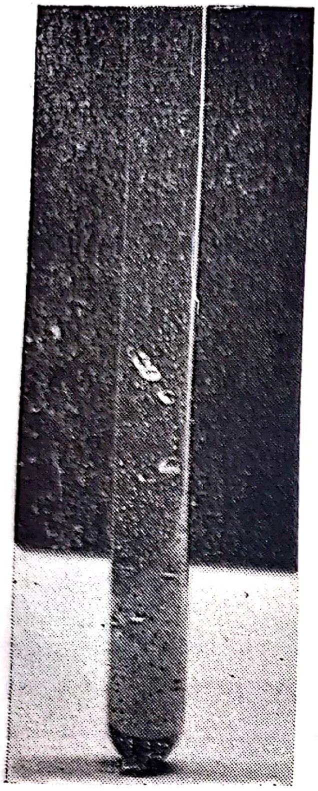


Fig. 54 — Bacterium necrophorum

Aspect cultural în gelozăVeillon cu ser

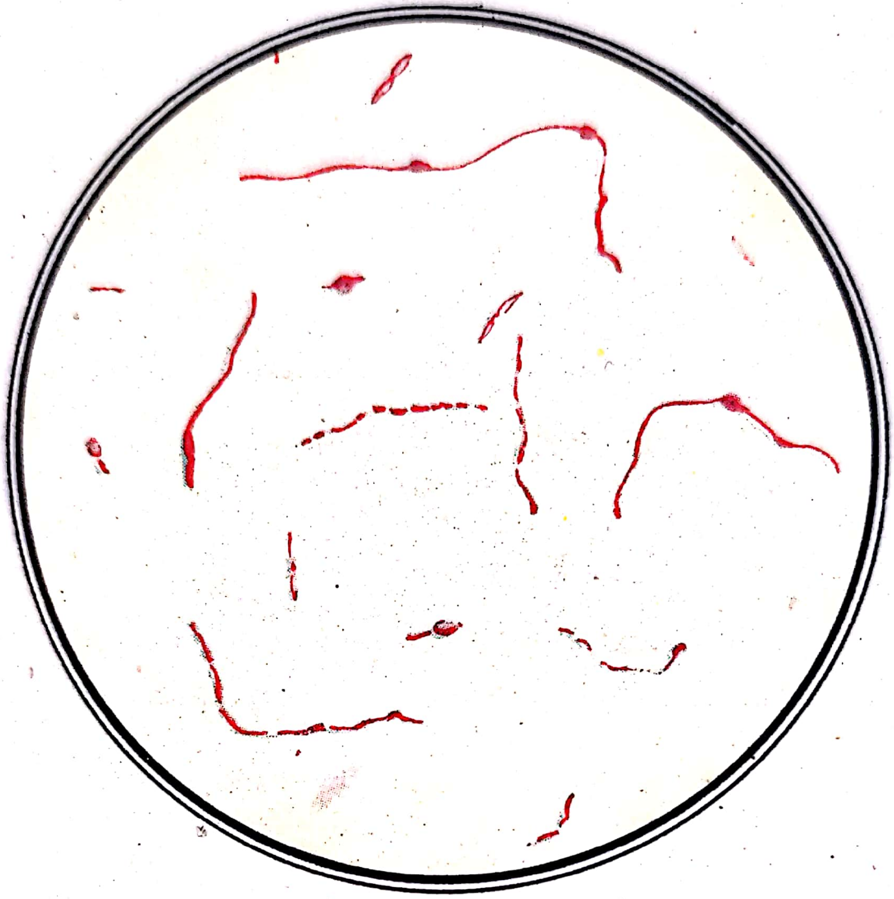
Temperatura optimă 37°C, dar crește la temperaturi cuprinse între 4 și 40°C. pH-ul optim este cuprins între 7,5 și 7,8, dar germenul vegetează în limite de pH destul de largi, de la pH = 6 la 8,4. În mediile lichide, unele tulpini produc un sediment filamentos, iar altele tulbură uniform lichidul. În geloza Veillon, bacilul constituie colonii de dimensiuni diferite de formă rotundă sau lenticulară.

Proprietăți biochimice. Bacteria fermentează constant, cu producție de acid și gaz, glucoza, maltoza și levuloza; inconstant, glicerina, galactoza și zaharoza. Produce indol și cantități reduse de hidrogen sulfurat. Reduce albastrul de metilen, dar nu reduce nitrații în nitriți. Lichefiază gelatina. Coagulează laptele. Produce hemoliza globulelor roșii, de om și iepure, dar nu a celor de cal sau oaie (Lahelle, 1947).

Nu există diferențe, din punct de vedere biochimic sau serologic, între tulpinile izolate de la diversele specii (Kovalenko, 1952).

Rezistență. Germenul se distruge în mai puțin de 5 minute, la temperatura de 60°C și într-un minut la 100°C. Rezistă mai mult de o oră la 45°, 30—40 minute la 50°, 5 minute, dar nu 10, la 55° (Li Van Sob, 1957). Rezistă cîteva ore la acțiunea luminii solare. Antisepticele obișnuite sînt destul de active. Astfel, soluția de fenol 2% distruge germenul în 2 minute, iar cea de 0,5% în 20 de minute; în soluțiile de creolină 1% el dispare după 10 minute, în cele de sublimat 0,05% după 20 de minute, în cele de fenol 0,5% după 15 minute, în cele de hipermanganat 1% după 10 minute. Se conservă greu în laborator, deoarece germenul moare în culturi din ce în ce mai repede pe măsura trecerilor. Germenul nu se adaptează la mediile de cultură și acestea, din contra, devin pentru el din ce în ce mai dizgenetice. Tulpini care inițial se transplantau bine la 3 săptămîni nu se mai transplantează, după cîteva pasagii, decît după 1 săptămînă și germenii sînt morți în culturile de 10 zile. În general, majoritatea tulpinilor se pierd după cîteva pasagii pe medii artificiale. Prin liofilizarea culturilor nu se asigură o mai lungă durată de conservare. Unele tulpini rezistă în aceste condiții 30 de zile, altele însă nu. În materialul infecțios el rezistă 1—2 săptămîni sau chiar mai mult.

Ecologie. *Bac. necrophorus* se pare că în mod obișnuit este un epifit al organismului animal. A fost izolat, într-adevăr, adeseori, de pe mucoasele tubului digestiv, din materiile fecale, precum și de pe mucoasele aparatului genital de la ierbivore. Kovalenko, de exemplu, îl izolează din materiile fecale ale animalelor bolnave (în procente de 52%), precum și din materiile fecale ale animalelor sănătoase (în procent de 25% de la bovine și 12,5% de la ovine). Existența sa în afara organismului animal nu poate fi însă exclusă. Dimpotrivă, unele cercetări experimentale par a dovedi că germenul se conservă și chiar se multiplică în unele medii naturale. Kobernik



Bacterium necrophorum
Frotiu din cultură pe agar moale cu ser (desen: *Cerni*)

(1954) de exemplu, afirmă că a izolat *Bac. necrophorus* din solurile de pădure (podzoluri) şi din mlaştini chiar după 60 de zile de la contaminarea lor cu material patologic provenind de la animale bolnave. În condiţii experimentale, de altfel, acelaşi autor a constatat că în solurile artificial contaminate şi apoi acoperite cu materii fecale de cal germenul se conservă, în medie, 75 de zile. Reiese din aceste cercetări că germenul persistă şi eventual chiar se multiplică în solurile umede, bogate în anumite substanţe organice şi avînd o temperatură convenabilă (25—30°C).

Infecţia este răspîndită pe tot pămîntul şi se întilneşte la cele mai diverse specii animale, dar nu la om. Ea este datorită secreţiilor toxice şi multiplicării germenilor în ţesuturile modificate sub acţiunea toxinelor. Importanţa toxinelor în evoluţia procesului morbid reiese în special din constatarea făcută de Césari, după care culturile integrate sînt mai active la animalele de experienţă ca suspensiile de germeni în apă fiziologică, spălate prin centrifugare.

Produsele toxice se găsesc în culturi de 24 de ore, în mediile lichide. Ele se comportă ca exotoxinele bacteriene. Se distrug printr-o încălzire de 5 minute la 100°C, dar nu 1/2 oră la 55°C (Césari, 1912). Sînt toxice, pe cale intravenoasă, pentru cobai şi iepure (Césari, 1912—1913).

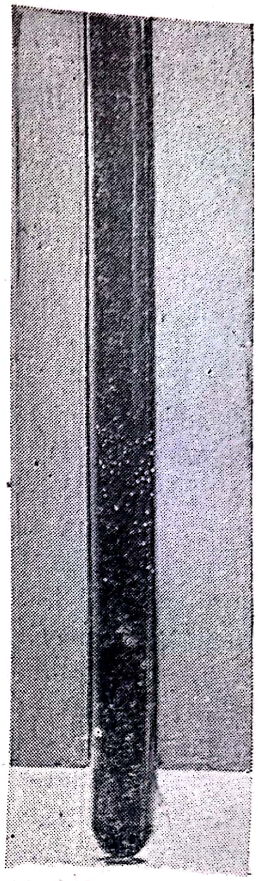


Fig. 55 — Bacterium necrophorum

Proba serofiliei: la geloza Veillon se adaugă ser pe fundul tubului şi fără a se amesteca serul se însămînţează; apar colonii în zona intermediară cu o concentraţie optimă de ser

La cobai, 1 ml de cultură integrală sau de lichid de centrifugare produce moartea imediată a animalului. Acesta prezintă, îndată după inoculare, o stare de înţepenire, pierde reflexele corneene şi moare după 2—3 inspiraţii profunde. Bătăile cordului încetează o dată cu respiraţia. Dozele mai mici produc moartea după un timp mai îndelungat. Astfel, 0,5 ml de cultură integrală omoară animalul după 5—30 de minute. După inoculare, cobaiul prezintă tulburări respiratorii, dureri la presiune în regiunea toraco-abdominală, iar după moarte o congestie intensă a masei gastrointenstinale. Dozele mai mici omoară animalele după o mai lungă perioadă. În general, 0,1 ml de cultură integrală sau 0,5 ml de lichid de centrifugare nu este o doză mortală pentru cobai. Pe cale subcutană, lichidul de centrifugare a culturii sau filtratele de cultură produc, tot la cobai, edem urmat de necroză cutanată şi escară. Aceasta din urmă se elimină după 4—5 zile, lăsînd în urmă un ulcer vindecabil.

La iepure, 3—4 ml de lichid de centrifugare, inoculat pe cale intravenoasă, produce moartea animalului în 1—12 ore, cu tulburări respiratorii (dispnee) şi digestive (diaree). La autopsie se constată incoagulabilitatea sîngelui, congestia masei gastrointestinale şi a organelor interne. Cordul continuă să mai bată cîtva timp după încetarea respiraţiei. Pe cale subcutană, lichidul de centrifugare produce un edem urmat numai rareori de escară.

Bacilul pune în libertate și *hemotoxine;* acestea se găsesc în culturi vechi de 7—42 de zile, sînt reținute de filtre, se distrug la 56°C și sînt active în special față de globulele roșii de iepure. Soma bacteriei conține principii toxici, care pot fi extrași prin metode chimice.

Infecția experimentală poate fi reprodusă cu oarecare ușurință la iepuri și șoareci, mai greu la cobai și la unele animale domestice cum sînt boul, calul, porcul și oaia. Carnasierele — ciinele și pisica — precum și păsările — găina și porumbelul — sînt refractare.

Cobaiul, inoculat pe cale subcutană, face în cîteva ore un edem urmat de cianoza și necroza pielii ; uneori, în urma acestor procese, se constituie o fistulă vindecabilă.

Inoculat pe cale intravenoasă, cobaiul prezintă tulburări care sînt în raport direct cu doza. Astfel, 1 ml de cultură în bulion de 24 de ore îl omoară instantaneu ; 0,1 ml îl ucide în cîteva minute, ore sau zile. Animalele care mor repede după inoculare prezintă, înainte de moarte, tulburări respiratorii și convulsii ; la cele care mor mai tîrziu se găsesc, uneori, leziuni nodulare, cu mulți bacili, în ficat. Generalizarea infecției se face relativ rar la cobai, la care leziunile experimentale sau spontane nu au, în general, caracter invadant.

Inoculările intraperitonale dau rezultate similare cu cele intravenoase. Dozele mortale pe cale intraperitoneală, sînt însă mai mari în raport cu cele active, pe cale intravenoasă.

Iepurele, inoculat subcutan, cu 1—2 ml de cultură în bulion, face un edem întins, care se constituie în abces și se fistulează. Leziunea locală nu se vindecă. Infecția se generalizează și animalul moare cașectic în 2—3 săptămîni. Unele tulpini produc o infecție mortală, în aceleași condiții, în 1—4 zile. În cazul inoculării iepurelui cu asemenea tulpini se produce o reacție locală puternică, invadantă. Țesuturile de la locul de injecție se necrozează și animalul moare în urma unei toxiemii.

Inoculările intravenoase cu doze mari (2—4 ml), produc moartea animalului în cîteva zile ; la autopsie se constată leziuni necrotice în ficat și pulmon. Unele din animale astfel inoculate pot prezenta o pleuropneumonie purulentă, asemănătoare celei întîlnite în boala naturală.

Inoculările intraperitoneale sînt inofensive pentru iepure.

Șoarecele, inoculat pe cale intraperitoneală, cu 0,05 ml de cultură, face o peritonită mortală în 1—3 zile. Germenul se poate izola din lichidul peritoneal. Pe cale intravenoasă, dozele de 0,01 ml produc moartea animalului, în mod constant, după 24 de ore. Pe cale subcutană, dozele, de cultură de 0,1 ml produc o infecție mortală în 24—48 de ore. Lichidul de centrifugare a culturilor în bulion de carne plus ser nu produce o intoxicație mortală decît în doza de 0,5 ml.

Oaia, inoculată pe cale intradermică, face o necroză la locul de inoculare, care este evidentă chiar 24 de ore după injecție. Leziunea locală se vindecă. Inocularea culturii pe cale subcutană produce un abces vindecabil.

La cal, Kobernik (1954) a reprodus infecția aplicînd în regiunea coronară, în prealabil ușor traumatizată, fețe de tifon îmbibate în material patologic. Feșele erau menținute timp de 6—8 ore ; leziunile ce se produceau în aceste condiții constau fie din ulcerații ale pielii, fie din necroze întinse, urmate de constituirea unor flegmoane și de generalizarea infecției — metastaze în diverse organe interne.

Infecția naturală este întîlnită la cele mai diverse specii, ea complicînd secundar alte stări morbide sau evoluînd ca o infecție primară. Evoluția infecției este de obicei cronică.

Primele relatări asupra bolii au fost făcute de Dammann în 1877, care studiază și descrie afecțiunea la viței. Sprijinindu-se pe aspectul leziunilor bucale, autorul apropie boala de difteria umană, socotind chiar că cele două boli au o etiologie comună, și dînd bolii vițeilor, din această cauză, numele de difterie (difteria vițeilor). Löffler (1884) arată însă că agenții etiologici ai celor două boli sînt total diferiți. După aceste prime cercetări și după ce Bang (1891) și Schmorl (1891) izolează agentul etiologic al bolii în cultură pură, necrobaciloza a fost descrisă la numeroase specii animale, dovedindu-se astfel importanța considerabilă pe care el o are în patologia animală.

La bovine, bacilul se găsește în leziunile difteroide de pe mucoasa bucală a vițeilor, precum și în unele pneumonii necrotice. La bovinele adulte, germenul poate fi izolat din panarițiu interdigital și din abcese ale organelor interne (ficat, creier). Leziunile bucale produse de diverse virusuri sau de agenți chimici sau mecanici se pot complica prin intervenția acestui germen.

La ovine, el produce necroza tegumentului interdigital și a copitei (afecțiune cunoscută sub numele de șchiop, putrezirea copitei) și complică leziunile produse pe mucoasa bucală și pe tegumentul interdigital în special de virusul ectimei contagioase. Etiologia șchiopului a fost în ultimul timp mult discutată. Olah și colaboratorii (1953) afirmă, de exemplu, că leziunile podale la ovine sînt, inițial, datorite acțiunii virusului ectimei contagioase și că bacilul necrozei este totdeauna un germen de infecție secundară, el singur nefiind capabil să producă asemenea tulburări. Este probabil că germenul complică leziunile de ectimă, dar și modificări produse în anatomia și fiziologia copitei de alți factori — mecanici, igienici — pot crea condiții favorabile fixării germenului în această regiune. De altfel, Băieș și colaboratorii, care au examinat un număr mare de cazuri, nu au găsit niciodată la animalele bolnave de șchiop și leziuni de ectimă. În schimb, Goncearov găsește totdeauna bacilul necrozei. Pe de altă parte, Selivanov (1955) nu a reușit să transmită boala cu filtrate obținute din materialul patologic recoltat de la oi bolnave de putrezirea copitei sau de șchiop, ceea ce arată că în materialul patologic nu este prezent totdeauna un virus. Autorul reproduce boala cu material patologic integral, dar nu cu culturi de *Bact. necrophorum*. Negulescu și Grigore reproduc însă boala și cu culturi.

Leziunea inițial localizată la tegumentul interdigital se poate complica, producîndu-se, în acest caz, pododermatite, artrite, tenosite, osteite etc. Animalele, cu asemenea leziuni, slăbesc și pot muri cașectice, prezentînd, uneori, la autopsie, și localizări în organele interne. La miel, și mai rar la oile adulte, bacilul se localizează în organele interne, provocînd fie pleuropneumonii purulente, fie leziuni nodulare, multiple în ficat. Hepatita nodulară produsă de *Bact. necrophorum* este destul de frecventă la miei și ea este o consecință a pătrunderii germenului prin plaga ombilicală. Pierderile datorite acestei localizări sînt, uneori, și în unele efective, foarte mari, majoritatea mieilor murind scurt timp după naștere. La autopsie, ceea ce atrage în primul rînd atenția este prezența, în parenchimul hepatic al unor noduli de mărimi variabile — cît o alună, o nucă sau mai mari — de culoare galbenă-gri. Din noduli, bacilul se izolează în stare pură.

Pierderile produse de infecțiile cu bacilul necrozei la ovine sînt, în unele efective, importante. Teodoreanu și Popescu (1955) constată, de exemplu, că într-o turmă de oi Merinos procentul de morbiditate (localizări podale) a fost, în anul 1951, de 57,27% (484 de oi bolnave din totalul de 871). Morbiditatea în acest caz, cum este de altfel în general, a fost mai mare la tineret (74,0% la miei) ca la oile adulte (35,30%). Berbecii s-au îmbolnăvit de asemenea într-o proporție însemnată (56,60%). Băieș și colaboratorii (1956) constată, de asemenea, că necrobaciloza la oi poate avea un caracter enzootic masal, cuprinzînd în scurt timp cea mai mare parte din animale, peste 90%.

Infecția, după observațiile făcute la noi în țară ca și în alte țări, este mai frecventă vara decît iarna. În general, păscutul pe terenuri care pot leza mecanic (miriști) sau chimic (sărături) țesuturile extremităților creează condițiile favorabile apariției bolii. Asemenea condiții se pot crea și în cazul stabulației prelungite în grajduri și padocuri umede, necurățite, cînd copitele cresc anormal, creîndu-se astfel condiții favorabile multiplicării germenului.

La capră, bacilul poate produce leziuni labiale, mamare, vulvare și prepuțiale (Gluhovschi și col. 1949), asemănătoare celor întîlnite și la oi.

La porc, bacilul provoacă necroze cutanate și tisulare profunde; complică uneori leziunile intestinale și pulmonare produse de virusul pestei porcine. Necrobaciloza este mai frecventă la animalele tinere — purcei — decît la cele adulte și pierderile la primele sînt uneori foarte mari. După Kovalenko (1954) pierderile, în unele cazuri, pot atinge proporții de 60—70%. Celan și colaboratorii (1956) au descris o enzootie apărută într-o grupă de 211 purcei în vîrstă de 2—4 luni și în care procentul de morbiditate a fost de 26% (54 de exemplare). Mortalitatea printre purceii îmbolnăviți a fost de 12,9% (7 exemplare). Infecția, în acest caz, a fost localizată numai la piele și țesutul conjunctiv subcutan din regiunea capului, cefei, coastelor și abdomenului, în special în jurul liniei albe. Inițial se producea hiperemia și edemul regiunii afectate; urma apoi necroza și eliminarea țesuturilor; ca o consecință a acțiunii bacilului se necrozau și eliminau urechile în întregime sau fragmente importante din ele. În regiunea abdominală, procesul necrotic putea merge pînă la perforarea peretelui abdominal, cu hernierea consecutivă a masei intestinale și peritonită.

La cal, bacilul necrozei poate fi găsit în javart, în diverse leziuni ale pielii și țesuturilor adiacente, precum și în organele interne. Britton (1947) l-a găsit, de exemplu, la mînji, în infecții care clinic se manifestau prin diaree şi febră, iar anatomo-patologic prin pleuropneumonii, abcese în ficat şi ganglioni, ulcere pe mucoasa cecului şi a colonului. Zaharov (1952) găseşte bacilul în leziuni ale buzelor, în fistula grebănului, în osteomielite etc.

Boala, după Kobernik (1954), este, sub toate formele, o infecţie telurică necontagioasă. Autorul, într-adevăr, nu a observat transmiterea bolii de la animale bolnave la animale sănătoase, dar a observat apariţia bolii ori de cîte ori caii stăteau pe soluri mlăştinoase şi cu mult bălegar, soluri care după autor sînt favorabile multiplicării germenului.

La reni, în regiunile nordice, infecţia se manifestă de obicei ca o boală a copitelor, cu evoluţie cronică, dar uneori ea poate evolua acut, sfîrşind cu moartea, în cîteva zile. Se mai pot observa şi localizări bucale, care evoluează independent sau în legătură cu infecţia podală, precum şi localizări în organele interne, sub formă de focare necrotice în ficat şi pulmon. Popov (1952) a întîlnit şi descris o localizare frontală, care se caracteriza printr-o tumefiere a regiunii frontale, urmată de constituirea, în aceeaşi regiune, a unor abcese şi ulcere. Germenul pare că traversează cutia craniană, localizîndu-se în creier, unde produce leziuni hemoragice şi necrotice.

La iepuri, infecţia poate evolua sub forme diferite. Frecvent, în unele crescătorii se întîlnesc localizări linguale, care se manifestă printr-o salivaţie abundentă, urmată în 1—2 zile de moartea animalului. La autopsie se constată necroza unei porţiuni importante din limbă ; în secţiunile histologice se observă germeni numeroşi, situaţi la limita dintre ţesutul normal şi cel necrozat. Reacţia inflamatorie, în jurul leziunii, este aproape inexistentă. Localizările linguale par a fi favorizate şi declanşate de injecţia unor toxine bacteriene — nucleoproteina colibacilară, de exemplu.

Infecţia naturală evoluează însă de cele mai multe ori sub forma de pleuropneumonii, formă în care se observă acumularea unei cantităţi importante de material purulent în sacul pleural. Bacilul poate infecta diverse plăgi cutanate accidentale, producîndu-se în acest caz abcese care evoluează în ţesutul conjunctiv subcutan. Germenul invadează din aceste abcese ţesuturile din jur, şi mergînd din aproape în aproape provoacă necroze tisulare profunde.

Schmorl, care a descris primul infecţia naturală la iepure, a întîlnit o formă de necrobaciloză situată la faţă. Infecţia avea caracter invadant şi producea constant moartea animalelor.

Animalele sălbatice din grădinile zoologice, cum sînt : cerbul, tapirul, zebra, hipopotamul, lama, cangurul, maimuţa etc. pot fi şi ele infectate de bacilul necrozei. Infecţia se localizează, la animalele cu copita despicată, în special, pe tegumentul interdigital ; la celelalte pe mucoasele bucală, stomacală, intestinală precum şi în organele interne (Karcevskaia, 1955).

Diagnostic. Examenul clinic, bacteriologic şi anatomo-patologic permite de cele mai multe ori precizarea diagnosticului. Fixarea complementului poate fi folosită pentru diagnosticarea formelor oculte la cai (Zaharov, 1949), ca antigen se întrebuinţează un extract obţinut prin fierberea unei suspensii de germeni provenind dintr-o tulpină trecută recent pe iepure.

Pentru a identifica animalele purtătoare şi care elimină germenii prin materiile fecale se fac inoculări la animale de experienţă. Kovalenko foloseşte ca animal de experienţă iepurele, pe care îl inoculează cu culturi de 3 zile făcute direct din materiile fecale ale animalului de examinat. Karcevskaia (1955) afirmă că se pot obţine bune rezultate şi prin inoculări la şoarece, cu condiţia de a inocula nu o cultură, ci o suspensie de materii fecale (1 g de fecale la 10 ml de apă fiziologică sterilă ; 5—10 minute repaus ; filtrarea lichilului de deasupra prin vată şi inocularea filtratului, în doza de 0,2 ml, subcutan, în regiunea dorsală).

Profilaxie. Se recomandă evitarea lezării tegumentelor exterioare prin marşuri pe drumuri sau pe păşuni accidentale, îngrijirea şi curăţirea copitelor, pensularea plăgii ombilicale la miei cu un antiseptic — tinctură de iod —, eliminarea şi izolarea animalelor cu leziuni, precum şi a purtătorilor, distrugerea materialului infecţios, secarea mlaştinilor, eventual schimbarea locului de păşune etc.

De asemenea, trebuie să se acorde o atenţie deosebită alimentaţiei, deoarece, după Selivanov (1955), în producerea bolii tulburările metabolice consecutive unor deficienţe de ordin mineral (Ca şi P) sau vitaminic (vitamina D) înlesnesc apariţia bolii. În U.R.S.S., în 1951, în profilaxia necrobacilozei s-a încercat un vaccin şi rezultatele au fost satisfăcătoare. Totuşi, imunoprofilaxia nu pare a permite prea mult, dat fiindcă nici chiar animalele care au trecut prin boală nu devin imune şi în condiţii favorabile ele se pot din nou infecta (Băieş şi col. 1956).

Tratament. Germenul este sensibil la penicilină : in vitro el este inhibat de o concentraţie de 0,02—0,04 U. I. pe 1 ml (Velu şi Bonffanais, 1948, Grezin, 1949). În tratamentul necrobacilozei, penicilina s-a arătat de asemenea foarte activă, mai ales cînd s-a intervenit la începutul bolii. În formele externe, ea se aplică fie sub formă de pensulări, fie sub formă de pansament cu pomadă de penicilină ; în formele interne se injectează intramuscular sau intravenos, în dozele obişnuite (1 000—2 000 U. I. pe kilocorp şi pe zi). Hemopansamentul sulfamidat este ineficace (Băieş şi col. 1956).

S-au folosit în tratamentul necrobacilozei şi antisepticele obişnuite, ca soluţiile Lügol, apă oxigenată 3%, sulfat de cupru 10—30%, hipermanganat de potasiu 3% etc. cu rezultate satisfăcătoare, dar inferioare celor date în special de pansamentele cu penicilină. În localizările podale, trecerea animalelor printr-un strat de antiseptic — aşternut îmbibat cu un strat de antiseptic — poate duce, uneori, la vindecarea leziunilor. Unii cercetători (Lebovitz, 1948) obţin rezultate pozitive în pododermatita bovinelor, printr-un tratament general cu sulfamide. Acestea sînt administrate o singură dată, pe cale intravenoasă : 60 g de sulfatiazol în 500 ml de apă pentru animalele mari, 30 g în 250 ml de apă pentru viţei. Procentul de vindecări a fost de 95%.

În tratamentul local al formelor de necrobaciloză, situate la extremităţi, sau chiar în alte regiuni ale corpului, aplicarea substanţei terapeutice trebuie să fie precedată de toaleta regiunii. În primul rînd se îndepărtează chirurgical țesuturile mortificate, părțile de corn crescute anormal, și apoi regiunea se spală cu apă caldă și săpun și la urmă cu o soluție dezinfectantă. Pomada cu penicilină, care dă rezultatele cele mai bune, se aplică pe regiunea astfel pregătită.

Penicilina, în vederea aplicării ei, se amestecă, de regulă, cu diverse substanțe. Un amestec care a dat bune rezultate este următorul (Stamatin, Ungureanu și Greceanu, 1956):

ceară de albine . .	150 g
oleu de vaselină neutră . .	50 g
penicilină	400 000 U.I

El se prepară astfel: ceara topită se amestecă, într-un mojar, întîi cu oleu de vaselină și apoi cu soluția de penicilină în apă fiziologică. Această pomadă se pune pe benzi de tifon care se aplică pe leziunea necrobacilară. Benzile de tifon se fixează pe regiune printr-un bandaj, care se scoate după 5—7 zile. Tratamentul se repetă cînd este necesar.

Mutovin (1953) amestecă, în vederea tratamentului șchiopului la oi, penicilina (100 000 U. I. în 5 ml de apă fiziologică) cu untură de pește (500 ml). Tratamentul se face ca și cu pomada penicilinată. Negulescu și Grigore (lucrare inedită) obțin rezultate bune cu un amestec de untură de pește și penicilină (1 l de untură de pește se amestecă cu 1 milion U. I. de penicilină în prealabil solubilizată în 10 ml de apă). Perifocal autorii injectează 25 mg de streptomicină. Cloromicetina — soluție alcoolică 10% — dă de asemenea rezultate bune. Băieș și colaboratorii (1956) obțin rezultate bune — procent de vindecări de 99% — cu soluții 10—20% de formol, aplicate pe regiunea infectată, în prealabil pregătită printr-un tratament chirurgical și igienic. Eficacitatea tratamentului cu formol este contestată de Negulescu și Grigore. Indiferent de felul medicației, animalele supuse tratamentului trebuie să fie ținute în condiții igienice, în special, în locuri uscate, cu mult așternut pe jos.

BIBLIOGRAFIE

BAIEȘ I. și col. — Observații asupra tratamentului necrobacilozei ovine. *Comunicări științifice, Facultatea de medicină veterinară,* Arad, 1956.

BRITTON J. — Necrobaciloza la mînz. *The Cornell Vet.,* 1947, 37, p. 391.

CELAN B., HAROVIUC S. și CUCU S. — O enzootie de necrobaciloză cutanată la porcine. *Probleme zootehnice și veterinare,* 1956, nr. 8, p. 73.

CÉSARI E. și ALLEAUX — Studii asupra bacilului lui Schmorl. *Ann. Inst. Pasteur,* 1912, 26, p. 625.

CÉSARI E. — Studii asupra bacilului lui Schmorl. *Ann. Inst. Pasteur,* 1912, 26, p. 802 și 1913, 27, p. 230.

CLUHOVSCHI N., RAUCHBACH C. și TALLE RAHOVEANU — Enzootie de necrobaciloză la caprine, *Revista de medicină veterinară și zootehnie,* 1949, 60, p. 96.

GONCEAROV F. A. — Despre etiologia putrezirii copitei la oi. *Veterinaria,* 1955, nr. 12

GREZÌN F. V. — Tratamentul necrobacilozei experimentale, la vitele mari, cu penicilină purificată. *Veterinaria,* 1949, 11, 1, 31.

KARCEVSKAIA K. V. Contribuţii la problema diagnosticului necrobacilozei în timpul vieţii. *Veterinaria,* 1955, nr. 1.

KOBERNIK N. L. — Necrobaciloza cailor. *Veterinaria,* 1954, nr. 10.

KOVALENKO I. R. — Tipizarea agentului infecţios al necrobacilozei (Bact. necrophorus). *Trudi gosudarst. venogo naucina controlinogo instituta veterinarnîh preparatov,* 1952, 3, p. 173

KOVALENKO I. R. — Infecţiile anaerobe ale animalelor domestice. *Selhozghiz,* Moscova, 1954.

LAHELLE O. — Studiul a 20 tulpini de Act. necrophorus. *Acta Path. et Microb, Scand. Supl.,* 1947, 67, p. 363.

LEBOVITZ — Tratamentul pododermatitei infecţioase a bovideelor prin sulfatiazol sodic. *J.A.V.M.A.* 1948, 112, p. 453.

LI VAN SOB — Cercetări asupra biologiei bacilului necrozei. *Comunicare cerc ştiinţific studenţesc,* 1957, Bucureşti.

MUTOVIN I. V. — Despre măsurile de lichidare a putrezirii copitei la oi. *Veterinaria.* 1953, nr. 4, p. 30.

MUTOVIN I. V. — Putrezirea copitei la oi şi măsurile de combatere. *Selhozghiz,* Moscova, 1955.

OLAH şi col. — Rolul virusului dermatitei pustuloase contagioase a oilor şi caprelor în etiologia aşa-numitei „putreziri a copitei“ la oi. *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae,* 1953, 3, p. 237.

POPOV V. G. — Despre boala capului la reni. *Veterinaria,* 1952, nr. 1, p. 32.

SELIVANOV V. A. — Influenţa condiţiilor de întreţinere şi hrănire asupra apariţiei şi evoluţiei putrezirii copitei la oi. *Veterinaria,* 1955, nr. 2.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi GRECEANU AL. — Anaerobiozele oilor. *Institutul de patologie şi igienă animală.* Colecţia Indrumări, nr. 8, 1956.

VELU H. şi BONFFANAIS A. — Sensibilitatea bacilului lui Schmorl la penicilină. *Ann. Inst. Pasteur,* 1948, 74, p. 253.

TEODOREANU N. şi POPESCU C. — Cercetări asupra aclimatizării merinosului precoce la G.A.S. Rupea. *Acad. R.P.R., Buletinul de ştiinţe biologice, agronomice* etc., 1955, 7, p. 91.

ZAHAROV V. I. — Diagnosticul necrobacilozei cailor prin reacţia fixării complementului (R.F.C.). *Veterinaria,* 1949, nr. 7, p. 54.

Bacterium mastitidis Meisner şi Schop, 1932, Hauduroy, 1937

Sinonime :*Pasteurella mastitidis* Meissner şi Schoop, 1932, Marsh, 1932. *Bacterium ovinum* Haupt, 1932.

Dammann şi Frese (1907) izolează această bacterie din laptele şi glanda mamară a oilor, prezentînd simptomele unei mamite acute. Marsh (1932) descrie o mamită la oi produsă de un germen pe care el îl numeşte *Past. mastitidis,* şi care probabil este identic cu *Bact. mastitidis.* Popovici şi Stamatin l-au izolat la noi în ţară din mamela unei oi sacrificate din cauza unei mamite grave.

Caractere morfologice. Bacteria este polimorfă; în culturi se întîlnesc bastonaşe de lungimi diferite; unele de-abia mai lungi decît late, 0,5 microni lăţime şi 1—2 microni lungime, altele constituind adevărate filamente. Formele scurte pot fi dispuse în lanţuri. Bacilii pot fi drepţi sau uşor curbaţi.

Bacilul este imobil. Nu sporulează. Gram negativ. Poate prezenta o coloraţie bipolară.

Proprietăţi culturale şi biologice. Bacteria este facultativ aerobă. Se cultivă pe medii simple, dar preferă pe cele cu ser. Tulpina izolată la noi în ţară nu se cultivă decît pe medii cu ser. Bulionul cu ser prezintă 24 de ore după însămînţare o tulburare de-abia perceptibilă. Pe agar cu sînge sau ser, bacteria formează colonii mici, cu suprafaţă netedă, lucitoare, vizibilă cu ochii liberi abia după 48 de ore de la însămînţare. În agar moale (0,5%) cu ser, cultura este abundentă şi bine vizibilă după o incubaţie de 24 de ore.

Nu se dezvoltă pe cartof.

Unele tulpini cresc pe gelatină la temperatura camerei; altele nu se dezvoltă în aceste condiţii.

Unele tulpini coagulează laptele; altele nu.

Bacilul ar reduce laptele turnesolat.

Bacilul are reduse proprietăţi zaharolitice; după unii autori el nu fermentează decît zaharoza; după Volkova în bulion cu 80% ser, fermentează glucoza, zaharoza, xiloza, levuloza şi maltoza şi inconstant manita şi sorbita.

Nu lichefiază gelatina.

Slab hemolizant pe agarul cu sînge.

Unele tulpini produc indol, altele nu.

Slabă producţie de hidrogen sulfurat.

Bun antigen; inoculat la iepuri provoacă apariţia anticorpilor aglutinanţi.

Culturile vechi conţin substanţe toxice.

Vitalitatea redusă în mediile de cultură, 5—10 zile.

Patogenitate. Inoculările experimentale, la şoarece, cobai, iepure, au dat, în mîinile diverşilor cercetători, rezultate diferite şi puţin concludente. Tulpinile cercetate de unii autori erau nepatogene; animalele inoculate nu mureau sau mureau după 15—45 de zile de la inoculare, fără a prezenta leziuni. Culturile inoculate, pe cale subcutanată, la oaie, produc un edem, de cele mai multe ori trecător şi numai rareori urmat de gangrena locală a pielii. Injecţiile intramamare, prin canalul galactofor, provoacă o mamită asemănătoare clinic şi anatomo-patologic celei spontane.

Tulpinile cercetate în U.R.S.S. de Milovzorova omorau şoarecele, pe cale subcutanată, în 5—7 zile, iar cobaii şi iepurii în 3—6 zile. După Volkova, calea intraperitoneală este mai severă ca cea subcutanată şi omoară şoarecii, cobaii şi iepurii într-un timp mai scurt şi cu doze mai mici. D.l.m. pentru cobai, pe această cale, ajunge pînă la 10^{-4}ml dintr-o cultură în mediu lichid.

Tulpina izolată în ţara noastră produce la iepurii şi cobaii inoculaţi pe cale subcutanată un edem local, care apare după cîteva ore după inoculare, atinge mărimea unui ou de găină şi se resoarbe în cîteva zile. Un singur şoarece din cinci inoculaţi pe cale intraperitoneală a murit; în frotiurile din lichidul peritoneal germenii au fost prezenţi, dar culturile au rămas sterile. Aceeaşi tulpină inoculată pe cale subcutană la oaie, produce o tumefacţie locală, care se resoarbe în cîteva săptămîni; animalele sînt febrile — 40,5 — 40,9°C — în primele zile după inoculare. Inocularea intramamară la oi, în perioada de lactaţie, produce o inflamaţie a glandei; laptele devine vîscos, filant, de culoare verzuie, cu numeroase elemente albe; mai tîrziu, el are aspectul zerului şi conţine în suspensie flocoane.

Infecţia naturală este cunoscută sub numele de mamită contagioasă; boala este mai frecventă la primipare ca la cele de cîţiva miei şi evoluează ca o mamită purulentă. Infecţia se pare că este exogenă — germenii pătrunzînd în glandă prin canalul galactofor sau prin soluţiile de continuitate ale pielii. Primele simptome apar după o incubaţie de 6—16 ore. Infecţia este localizată de obicei la una din mamele, mai rar la amîndouă. Laptele mamelei infectate este alterat, — secreţia acestei glande prezentîndu-se ca o serozitate verzuie şi conţinînd în suspensie flocoane de puroi. Inflamaţia glandei este însoţită şi de simptome generale: inapetenţă, tristeţe, febră 40,5—41°C; pulsul şi respiraţia sînt accelerate. În unele cazuri aceste simptome se agravează şi animalul moare în 3—4 zile; în alte cazuri, după 3—4 zile de boală simptomele generale dispar, iar fenomenele inflamatorii ale glandei se amendează, tumefacţia scade, roşeaţa pielii dispare. Uneori se poate constitui un abces în parenchimul glandei mamare, alteori glanda mamară se atrofiază şi se sclerozează fără a abceda. Animalele care au trecut prin boală nu mai pot fi, de obicei, exploatate pentru lapte.

Milovzorova (1930) a observat, în special în turmele în care erau cazuri de mamită produsă de acest germen, pneumonii cu aceeaşi etiologie la miei. *Bact. mastitidis* în aceste cazuri, se izola, în cultură pură sau în asociaţie cu alte bacterii (*Corynebact. pyogenes*, coci), din pulmon, sînge, cord, colecţii purulente din diverse organe. Volkova (1935) şi Strogov (1948) au izolat germenul şi din creierul mieilor morţi de pneumonie.

Diagnosticul, între această mamită şi alte infecţii ale glandei mamare, se face, cu precizie, numai prin metodele bacteriologice. Însămînţările se fac direct din mamelă, pe medii cu ser, de preferat agarul moale cu ser. Acest mediu cultivă atît agentul mamitei contagioase, cît şi pe cel al agalaxiei.

Tratamentul mamitei provocate de *Bact. mastitidis* a fost încercat de diverşi cercetători, cu medicaţii din cele mai variate, dar rezultatele obţinute au fost puţin favorabile. Se recomandă comprese reci, spălături cu soluţii antiseptice, injecţii intramamare cu soluţii 3% de acid boric, pomezi emoliente etc. Se obţine o reducere a mortalităţii prin injecţii subcutane cu ser normal sau cu ser imun. Vaccinoterapia ar îmbunătăţi, la fel, starea generală a animalelor şi ar evita completa compromitere a ţesutului mamar.

Preventiv, s-au aplicat cu oarecari rezultate vaccinuri omorîte prin căldură sau prin antiseptice. Un asemenea vaccin se injectează în doză de 2 ml; injecţia se repetă de 2—3 ori, la 10 zile interval.

Profilaxia infecţiei se sprijină pe măsuri sanitaro-igienice. Lichidarea mamitelor la oile adulte duce la dispariţia cazurilor de pneumonie printre miei.

Bacterium faecalis alcaligenes Petruschky, 1896

Sinonime: *Alcaligenes faecalis* Castellani şi Chalmers, 1919
Vibrio alcaligenes Lehmann şi Neumann, 1927.

Germenul a fost izolat pentru prima oară de Petruschky în 1896, din materiile fecale de la oameni care prezentau tulburări gastrointestinale şi l-a numit *Alcaligenes*, pentru că alcaliniza mediile de cultură. După această dată numeroşi alţi autori (vezi literatura în lucrarea lui Bonciu şi Ionescu, 1943) l-au izolat din materiile fecale diareice de la om, din sîngele şi organele oamenilor morţi cu tulburări gastrointestinale, din alimente — lapte, brînză, carne — care au produs intoxicaţii la om etc. În Romînia, Babeş şi Teodorescu, citaţi de Bonciu şi Ionescu (1943), izolează germenul din splina şi vezica biliară a unei femei care prezentase un sindrom tifoidic; Slobozianu şi Nasta (1931) din puroiul peritoneal de la doi gemeni, morţi de peritonită, la cîteva zile după naştere; Bonciu şi Ionescu din organele unui om mort cu simptome de intoxicaţie alimentară, în urma consumului de peşte.

Morfologie. Bacteria are o formă colibacilară, măsurînd 0,4 microni lăţime şi 1—2 microni lungime, apropiindu-se, ca aspect, de colibacil. Este nesporulat, necapsulat. Mobilitatea nu pare a fi prezentă la toate tulpinile. Nyberg (1935) afirmă că majoritatea tulpinilor sînt imobile sau slab mobile, deşi la toate se pot pune în evidenţă cili.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii uzuale, în aerobioză: mezofil. Tulbură bulionul, formînd peliculă şi un depozit vîscos. Pe agar, formează colonii rotunde, opace, cu marginile în general rotunde. Se dezvoltă pe cartof, pe care dă o cultură abundentă, colorată uşor în brun. Se dezvoltă în geloză Veillon numai la suprafaţă.

Proprietăţi biochimice. Germenul este lipsit de proprietăţi zaharolitice, faţă de substanţele curent folosite în laboratoarele de bacteriologie. Nu se poate încă preciza dacă germenul este total inactiv faţă de substanţele hidrocarbonate sau este activ, dar acizii produşi sînt neutralizaţi de către alcalii ce iau naştere în mediu. Nu produce indol, dar produce amoniac. Se multiplică în lapte, dar nu-l modifică. Alcalinizează net zerul turnesolat. Nu lichefiază gelatina şi nici serul coagulat.

Structură antigenică. Asbelew şi Mastowa (1931) găsesc că tulpinile patogene aparţin unei singure grupe serologice, diferită de a tulpinilor nepatogene. Germenul este un bun antigen şi inoculat la iepure, pe cale intravenoasă, provoacă apariţia anticorpilor aglutinanţi; titrul poate atinge valori de 1/4 000—1/8 000. Serurile astfel preparate au o acţiune specifică; ele, în nici un caz, nu aglutinează speciile din genul *Salmonella*.

Ecologie. Germenul se găseşte în materiile fecale şi cu acestea se răspîndeşte în natură. Stoenescu l-a izolat în repetate rînduri din cavitatea nazală de la iepure. A fost izolat din diverse procese patologice, localizate în tubul digestiv, precum şi din sînge sau organe de la om.

Patogenitatea acestui germen este contestată. Intr-adevăr, nu a fost izolat decît foarte rar în cultură pură, din cadavre umane, şi atunci nu s-a putut preciza dacă moartea a fost datorită acţiunii sale patogene. Bonciu şi Ionescu (1943) l-au izolat dintr-un cadavru uman, dar cu leziuni organice grave, ciroză hepatică hipertrofică, miocardită, pancreatită etc. În aceste condiţii, pe un asemenea teren, germenul ingerat probabil în cantitate mare, o dată cu alimentele (peşte), a putut provoca un sindrom de intoxicaţie alimentară care a dus la moarte. Simptomele au apărut brusc, la 15 minute după ingerarea alimentelor, şi au constat din dureri abdominale vii, balonarea abdomenului, vărsături, diaree şi ele s-au agravat progresiv, omul murind după 3 zile. La autopsie s-au găsit, pe lîngă leziuni organice vechi şi leziuni mai recente, ca enterocolită ulceroasă, nefrită acută degenerativă, pancreatită acută etc. Germenul a fost izolat din cord, splină şi intestin şi era aglutinat de serul bolnavului la titrul de 1/200. Alţi autori, în cazuri similare, au obţinut titruri aglutinante mult mai mari — 1/1 000, 1/1 200 sau chiar 1/1 500. Se pare deci că în anumite condiţii de receptivitate particulară, germenul, ingerat în cantitate mare o dată cu alimentele, poate produce intoxicaţii alimentare destul de grave, urmate eventual de moarte. Germenul poate fi socotit printre agenţii intoxicaţiilor alimentare.

Bac. faecalis este puţin patogen pentru animalele de experienţă. Tulpina izolată de Bonciu şi Ionescu omora cobaiul, într-o zi, dacă era injectat pe cale intraperitoneală, cu doza de 1 ml de cultură de bulion de 24 de ore ; la autopsie în organe erau prezente leziuni inflamatorii acute de tip toxic, iar bacilul a fost izolat din lichidul peritoneal. Inocularea culturii direct în cord produce de asemenea o boală mortală la cobai. Șoarecii inoculaţi pe cale intracerebrală cu 0,05 ml de cultură în bulion de 24 de ore, mor în medie, după 1 zi de la infecţie. Pe cale subcutană şi intraperitoneală cultura în bulion este în general nepatogenă pentru şoarece.

BIBLIOGRAFIE

BONCIU şi IONESCU — *Revista ştiinţelor medicale,* 1943, nr. 3, 4.

Bacterium prodigiosum Schroeter, 1872

Sinonime: *Serratia marcescens* Bizio, 1823. *Zoagalactina imetrofa* Sette, 1824. *Monas prodigiosa* Ehrenberg, 1849. *Chromobacterium prodigiosum* Topley şi Wilson, 1931.

Germenul constituie, în majoritatea determinatoarelor, împreună cu alte specii pigmentogene (*Bact. violaceum, Bact. kilensis, Bact. indicum* etc.) un gen aparte (genul *Serratia* în Bergey genul *Chromobacterium* în Topley şi Wilson, precum şi în Krasilnikov). Noi am ataşat această singură specie pe care o cercetăm genului *Bacterium*, deoarece pentru motive de simplificare a terminologiei nu am crezut necesar să mai introducem în schema de clasificare pe care o urmăm un nou gen, *Serratia* sau *Chromobacterium*, care nu conține de altfel nici o specie patogenă. Specia *Bact. prodigiosum*, ca și alte specii cromogene pot denatura alimentele și cunoașterea lor prezintă deci importanță pentru expertiza sanitară.

Prezența acestei specii a atras de mult timp atenția. Bizio, în 1823 și Sette în 1824 o observă în nordul Italiei, pe suprafața colorată în roș-viu ca sîngele, a unor alimente (mămăligă). Profanii socoteau această colorație ca un miracol și de aici numele de „prodigios“ dat agentului cauzal întîi de Ehrenberg în 1849, și menținut apoi în majoritatea clasificărilor ulterioare.

Morfologie. Germenul se prezintă ca un cocobacil, măsurînd 0,5 microni lățime și 0,5—1 microni lungime. De obicei celulele sînt izolate. Germenul este mobil; cilii în număr de 2—4 sînt dispuși peritrich. Nu formează spori și nici capsulă. Se colorează prin metodele obișnuite și este Gram negativ.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe medii obișnuite, în aerobioză, tulburînd bulionul, iar pe agar formînd colonii bombate, lucioase, rotunde, cu diametrul de 1—4 mm. Dă pe cartof o cultură abundentă. Temperatura optimă de dezvoltare este cuprinsă între 25 și 30°C.

Pigmentogeneză. Germenii, în special cînd sînt cultivați pe suprafața mediilor solide (agar și în special cartof), produc un pigment care colorează coloniile într-un roș viu ca sîngele. Producția de pigment este condiționată de anumiți factori. Astfel, ea nu are loc în absența oxigenului și la temperaturi prea ridicate — 35, 37°C. Temperatura optimă, pentru această producție, este 25—30°C. Tulpinile recent izolate din apă, pămînt sau alimente sînt intens pigmentogene, însă prin cultivare în laborator această însușire dispare treptat. Mediile sintetice sînt puțin favorabile producției de pigment, în orice caz mai puțin favorabile ca mediile naturale. Sulfatul de magneziu este necesar formării pigmentului. Pigmentul este solubil în solvanți organici — alcool, eter, cloroform, benzen —, dar este insolubil sau puțin solubil în apă.

Proprietăți biochimice. Fermentează glucoza. Lichefiază gelatina și serul coagulat. Produce hidrogen sulfurat și acetil-metilcarbinol, reduce nitrații în nitriți, dar nu produce indol.

Rezistență. Se distruge într-o oră la 55°C.

Ecologie. Bacteria se găsește în medii naturale — apă, sol — precum și, în, sau pe multe alimente — lapte, pîine. Nu a fost izolată din procese patologice de la om sau animale. Chiar în condiții experimentale, germenul nu este patogen decît în doze mari și pe anumite căi; astfel, pe cale intraperitoneală dozele mari omoară cobaiul. Moartea este, probabil, datorită protidelor toxice conținute de celula bacteriană.

Genul *Pseudomonas* Migula, 1900

În acest gen sînt incluse numeroase specii (148 în Bergey, 62 în Krasilnikov) patogene pentru animale sau plante, şi saprofite, care prezintă următoarele caractere generale:

1. forma bacteriei este cocobacilară, poliformă. Nu formează spori. Celula poate fi ciliată sau neciliată. Cilii pot fi în număr de unul sau mai mulţi, dispuşi în acest din urmă caz peritrich;
2. bacteria este Gram negativă;
3. fermentează glucoza, dar nu atacă lactoza;
4. reduce nitraţii în nitriţi, amoniac sau chiar N liber;
5. unele specii produc pigment.

Vom cerceta, din acest gen, două specii, şi anume: *Pseudomonas pyocyanea* şi *Pseudomonas punctata*.

Pseudomonas pyocyanea Migula, 1895

Sinonime: *Pseudomonas aeruginosa* Migula, 1900. *Bacterium pyocyaneum* Lehmann şi Neumann, 1896. *Bacterium aeruginosum* Schröter, 1872. *Bacillus pyocyaneus* Gessard, 1882.
Numele comun: bacilul piocianic.

Germenul a atras atenţia prin pigmentul verde-albastru pe care îl secretă şi de aceea a fost descris, încă de mult timp, de numeroşi cercetători: Schröter (1872), Gessard (1882), Migula (1895). Produce, la om şi la animale, afecţiuni purulente şi este numit din această cauză microbul puroiului albastru. Se poate izola din diverse colecţii purulente umane şi animale, din apa de rîu sau de canal, din materii fecale, din ouă etc. Este găsit, de asemenea frecvent, în rinite la păsări, iar de la purcei, în boala rîtului strîmb, se izolează din fosele nazale, cu o mare regularitate. A putut fi izolat din otite cronice de la cîini.

Morfologie. Bacterie polimorfă; în general alungită, măsurînd în medie 1,5 microni lungime şi 0,5 microni lăţime. Germenul, în frotiuri poate fi izolat sau grupat în diplo sau în lanţuri scurte.

Este mobil. Posedă 1—3 cili polari.

Necapsulat şi nesporulat.

Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii uzuale. Dă culturi abundente pe cartof. Produce o tulburare intensă a bulionului, iar pe agar colonii rotunde de dimensiuni însemnate, 3—5 mm. Aerob facultativ. Temperatura optimă 30—37°C.

Proprietăţi biochimice. Fermentează glucoza. Activ proteolitic; lichefiază gelatina şi serul coagulat. Hemolizează globulele roşii. Reduce nitraţii pînă la azot liber.

Nu produce în mod obişnuit indol.

Rezistenţă. Germenul este fragil şi se distruge uşor prin căldură (60°C) sau antiseptice. În materialul infecţios, uscat, rezistă cîteva săptă-

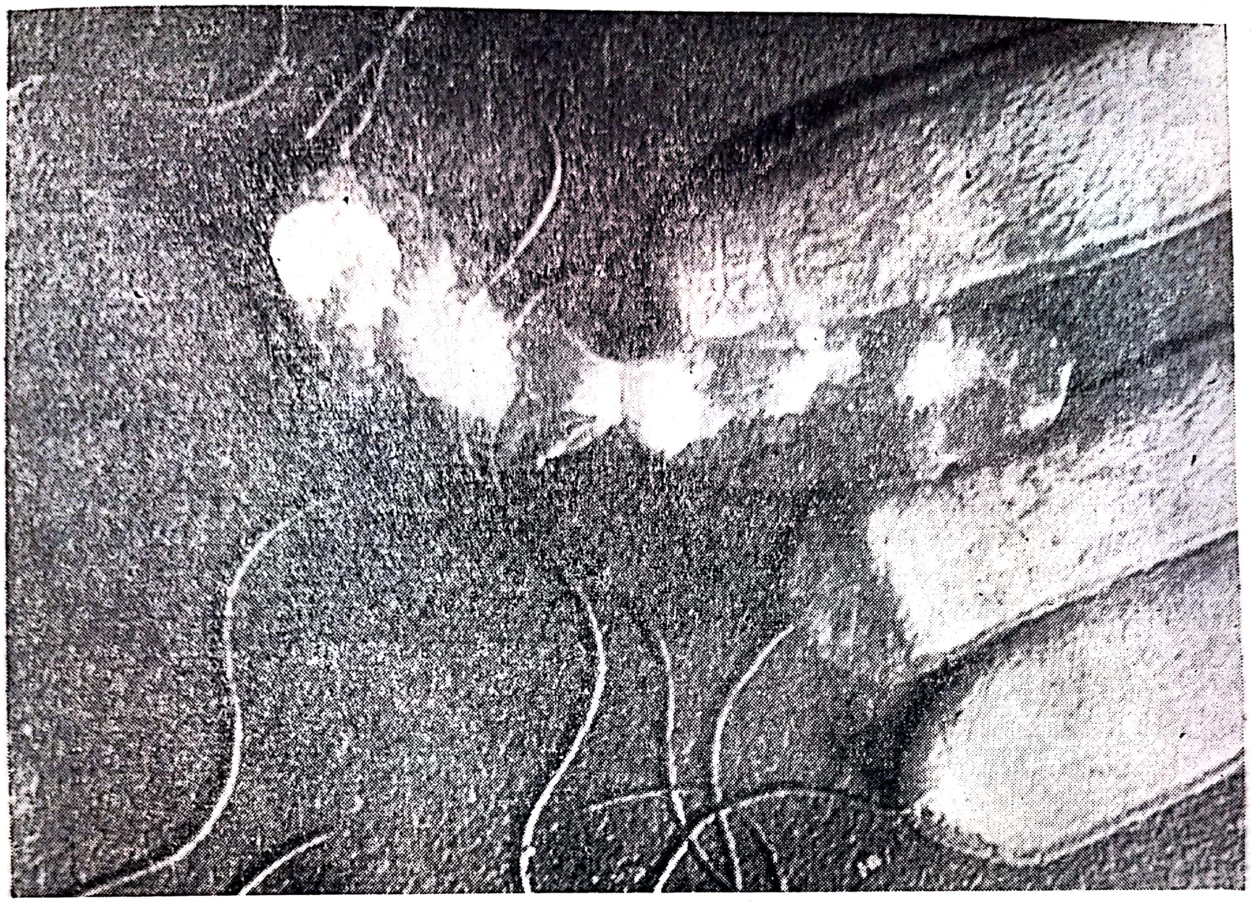


Fig. 56 — Pseudomonas aeruginosa, tulpina Biett; × 40 000 (după Scanga)
Fiecare bacil prezintă cilul inserat polar

mîni. Dintre antibiotice aerosporina este cea mai activă, urmată fiind de polimixină. Streptomicina este activă numai față de unele tulpini. Aureomicina și cloromicetina sînt active în doze mari, care nu pot fi folosite în clinică. Penicilina și bacitracina sînt total inactive (Frank și col. 1950).

Structură antigenică. Unele tulpini au antigeni comuni cu bacilul morvei și bacilul lui Whitmore. Un antigen, extras pe cale chimică din soma celulară, dă reacții alergice pozitive la caii morvoși.

Producția de pigment. Specia se caracterizează prin producția unor anumiți pigmenți. Datorită acestor pigmenți mediile pe care se dezvoltă în aerobioză se colorează în albastru-verzui. În anaerobioză, pigmenții sînt compuși, incolori și ei nu devin substanțe colorate decît în contact cu oxigenul.

Colorația este mai intensă pe medii solide — agar — decît în medii lichide. Bulionul, după dezvoltarea germenului, prezintă o colorație albastră-verzuie în partea lui superioară, în timp ce în partea inferioară mediul nu este colorat din cauza absenței oxigenului.

Pigmenții secretați de *Ps. pyocyanea* au fost cercetați din punct de vedere chimic și al valorii lor antibiotice.

Piocinanina este un pigment verde-albastru, derivat al fenazinei și secretat numai de *Ps. pyocyanea.* Este solubil în apă și cloroform. A putut fi obținut sub formă cristalizată. În culturile vechi, pigmentul se oxidează, colorîndu-se, în acest caz, în brun-închis.

Alfa-oxifenazina este un pigment galben, care se găsește în culturile vechi. Este termostabil și a putut fi obținut sub formă cristalizată. Exercită o însemnată activitate antibiotică asupra unor bacterii Gram negative *(Brucella, Proteus)*, ca și asupra unor bacterii Gram pozitive, cum sînt cocii sau bacteriile din genurile *Bacillus, Clostridium* sau *Corynebacterium.* Față de aceste din urmă bacterii, substanța este inhibantă în diluție de 1/10 000, iar față de coci în diluție de 1/20 000.

Fluoresceina este un pigment galben-gri, fluorescent, solubil în apă, dar insolubil în cloroform. Pigmentul este secretat și de alte specii din genul *Pseudomonas* și în special de *Ps. fluorescens.*

Patogenitate. Germenul este puțin patogen și nu produce tulburări la omul sau animalele care se găsesc în condiții fiziologice normale. Ajutat însă de alți factori morbizi el poate determina procese infecțioase, care produc o mortalitate însemnată, în special la tineretul avicol. Astfel, enzootii de o deosebită gravitate au fost descrise la puii de găină, curcă și porumbel. Stoenescu și col. (1954) au descris o enzootie de pseudomonoză la un lot de găini adulte, irațional alimentate. Boala s-a manifestat prin diaree — fecalele erau moi și colorate în verde-albastru — anorexie, anemie și slăbire progresivă, iar la autopsie s-a constatat o îngroșare a peretelui stomacului glandular, eroziuni pe mucoasa aceluiași compartiment, hemoragii pe mucoasa intestinală. Alimentele din gușă, stomac și intestine prezentau strii de culoare verzuie. Germenul a fost izolat din conținutul digestiv, dar nu din organele interne.

Germenul a mai fost găsit, singur sau în asociație cu coci patogeni, în diverse colecții purulente de la om și animale, în endocardite și meningite umane (Knight și col. 1952, Masi și Dettori, 1953), precum și în focare necrotice sau pulmonare, la animale etc. Infecții cu caracter septicemic au fost întîlnite la om (Martin și col. 1954). Produce de asemenea, la om, tulburări digestive, diaree de vară la copii și adulți. Infecții cu caracter septicemic au fost întîlnite la iepure (Rinjard și Homutov, 1936, Wohl și Forgeot, 1954). Tot la iepure Newberne (1953) descrie o enzootie de gastroenterită, care s-a soldat cu o însemnată mortalitate. În otite cronice, la cîini, poate fi găsit în stare pură. Farrag și Mahmoud (1953) afirmă, în acest sens, că un procent important din otitele canine este produs de *Ps. aeroginosa.*

Knox (1953) a descris o infecție cu *Ps. aeruginosa* la nurci. Boala a evoluat acut și la autopsie s-au găsit leziuni de bronhopneumonie. Germenul a fost izolat în toate organele și, în condiții experimentale, administrat per os, parenteral sau pe cale respiratorie el reproducea infecția spontană. Nu fermenta (într-un mediu sintetic compus din sulfat de amoniu 0,5%, fosfat dublu de potasiu, 0,5% și substanță hidrocarbonată de cercetat 1%) lactoza, zaharoza, dextrina, inulina, adonita, dulcita și salicina. În aceleași condiții se comporta inconstant față de trehaloză, ramnoză, manită, glicerină, fructoză, glucoză, galactoză, maltoză, xiloză şi arabinoză. Tulpinile izolate au fost cercetate şi din punct de vedere al structurii antigenice.

In condiţii experimentale germenul este patogen, în doze mari şi pe cale peritoneală, pentru cobai şi iepure. Bonciu (1946) a constatat că o cultură în bulion de 24 de ore omora pe cale intraperitoneală şi în doză de 1 ml cobaiul în 20—30 de ore, iar iepurele în 30—48 de ore. Simptomele la iepure apar la 2—3 ore după injecţie şi constau în convulsii, dispnee, abatere şi diaree. La autopsie atît la cobai, cît şi la iepure, autoarea găseşte leziuni congestive. Cultura, inoculată pe cale subcutană la cobai, produce un abces vindecabil.

Şoarecele este receptiv. Tulpinile izolate de Stoenescu şi colaboratorii (1955), de la păsări, omorau şoarecele, pe cale intraperitoneală, chiar în doză de 0,01 ml (50%) ; în doze mai mari (0,05—0,1 ml) şi pe aceeaşi cale, tulpinile omorau şoarecii în 16—24 de ore. Gorrill (1952) constată că pe cale intravenoasă, şi în doze mari, germenul produce o infecţie septicemică, mortală în 24—48 de ore, iar în doze mici, o nefrită purulentă, mortală în 3—14 zile. La unii şoareci apar şi tulburări nervoase.

Profilaxie şi tratament. Stoenescu şi colaboratorii recomandă în pseudomonoza păsărilor, în primul rînd, remedierea condiţiilor de igienă şi alimentaţie. Această măsură este valabilă pentru profilaxia pseudomonozelor la toate animalele. La om, infecţia este consecutivă unui traumatism al mucoaselor căilor urinare sau al pielii (arsuri).

În ceea ce priveşte tratamentul, Stoenescu obţine rezultate pozitive cu sulfamide. Vaccinul s-a arătat, de asemenea, de un real folos în combaterea bolii la păsări. În otitele cronice, produse de acest germen, se poate folosi de asemenea vaccinoterapia. La om, Martin şi colaboratorii (1954) obţin rezultate favorabile, în formele septicemice, folosind polimixina 100—200 mg pe zi, în inoculări intramusculare.

Pseudomonas punctata Zimmermann, 1890

Bacteria a fost găsită în apă şi descrisă de Zimmermann în 1890. Schäperclaus în 1930, Niculescu în 1945, îl consideră ca agentul hidropiziei infecţioase a crapului. Se pare că Babeş şi Riegler, în 1903, au izolat acest germen dintr-o epizootie a peştilor şi l-au numit *„Proteus piscicidus versicolor"*, socotindu-l înrudit cu *Proteus vulgaris*.

Morfologie. Bacteria polimorfă, măsurînd pînă la 1 micron lungime Lăţimea este de 0,4—0,5 microni (Niculescu).

Germenul este necapsulat.
Mobil, cu 1—2 cili polari.
Nesporulat.
Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii obişnuite. În bulion, cultura este vizibilă după 4—5 ore la 37°C şi se prezintă ca o tulburare uniformă a mediului. În culturile vechi se constituie un depozit şi se formează o membrană la suprafață. Pe agar, coloniile izolate sînt rotunde, avînd un diametru de 2—3 mm. Marginile și suprafața coloniilor sînt netede.

Temperatura optimă 22—24°C. Se dezvoltă la temperaturi cuprinse între 10 și 37°C.

Nu se dezvoltă (Niculescu) la 42°C, pH-ul optim = 7,2 — 8,4 cu limite extreme între 4,0 și 9,8. Se disociază dînd forme S și R tipice (Stamatin și Constantinescu, 1955).

Proprietăți biochimice. Stamatin și colaboratorii (1954) au cercetat 25 de tulpini din punct de vedere al proprietăților biochimice, constatînd că:

1. toate tulpinile au fermentat glucoza, zaharoza, maltoza, manita, manoza și galactoza; unele tulpini (15) au produs acizi și gaze, altele (10) nu au produs decît acizi;
2. nici o tulpină nu a atacat lactoza; Niculescu (1945) a găsit că tulpinile pe care le-a examinat fermentau acest dizaharid;
3. tulpinile au fost în general inactive față de xiloză și rafinoză; două tulpini au produs o ușoară acidifiere în mediul cu xiloză și trei în mediul cu rafinoză;
4. față de gelatină tulpinile s-au comportat deferit, și anume:
   a) nouă tulpini au produs o lichefiere totală a gelatinei;
   b) patru tulpini au produs o lichefiere parțială;
   c) șase tulpini nu au lichefiat gelatina;
5. 14 tulpini din cele 25 cercetate au hemolizat globulele roșii de cal, oaie, iepure și pește;
6. toate tulpinile au produs cantități reduse de hidrogen sulfurat;
7. unele tulpini au produs indol, altele nu;
8. laptele nu este coagulat.

Rezistență. Se distruge ușor prin căldură (60°C) și antiseptice. Germenul moare, la uscăciune și la lumină, în 48—58 de ore. În apă se conservă timp îndelungat, apa constituind se pare mediul natural al germenului. Germenul este puțin sensibil față de sulfamide și penicilină. Astfel, sulfatiazolul inhibă dezvoltarea sa la o concentrație de 0,2%, dar nu la o concentrație de 0,02%, iar penicilina nu este constant inhibantă nici la concentrația de 100 U.I. pe 1 ml. Germenul este sensibil față de streptomicină.

Paogenitate. *Ps. punctata* se izolează aproape regulat din cavitatea generală, ca și din sîngele și organele peștilor morți cu simptome și leziuni de hidropizie infecțioasă, iar culturile obișnuite de la asemenea animale, inoculate în cavitatea generală, în doze însemnate, 0,5 ml, produc uneori o infecție mortală la crapi, fără însă a produce totdeauna întregul cortegiu simptomatic al infecției naturale. Pe baza acestor date, unii cercetători îl consideră ca agentul hidropiziei infecțioase a crapului (Schäperclaus, 1930, Niculescu 1945, Wunder și Dombrowsky, 1953), iar alți cercetători îl socotesc ca germen de infecție secundară, factorul primar al hidropiziei fiind un virus (Doghel, Peșkov, Goncearov, Nicolau și col. 1951). Nicolau și colaboratorii admit că agentul hidropiziei este un virus neurotrop și numesc boala, pentru acest motiv, neuroviroza hidropigenă a peştilor. Studii asupra epizootologiei acestei boli au fost făcute, în Rominia, în special de Dinulescu şi colaboratorii (1954). În general, se afirmă că peştii normali sînt purtători de germeni şi că infecţia clinică îşi are originea în aceşti germeni purtaţi. Constantinescu însă nu a reuşit să izoleze germenul de la peşti normali. În schimb, Scurtu, 1957, l-a găsit frecvent la broască.

Problema etiologiei hidropiziei peştilor este încă în faza iniţială, şi rezolvarea ei necesită încă cercetări. În orice caz, *Ps. punctata* trebuie socotită ca o specie bacteriană patogenă pentru peşti (Niculescu, 1945, Stamatin şi col., 1956). Rămîne de precizat importanţa sa în apariţia şi dezvoltarea procesului morbid.

În condiţii experimentale, Stamatin şi colaboratorii (1954, 1955—1956) au demonstrat că unele tulpini izolate de la peşti cu leziuni de hidropizie, şi anume tulpinile hemolitice şi care produc gaze în medii cu zaharuri fermentescibile, sînt patogene atît pentru şoareci, cît şi pentru peşti (administrare parenterală). La şoarece, culturile în bulion ale tulpinilor hemolitice produc o infecţie mortală în cazul administrării pe cale intraperitoneală, în doză de 0,1—0,25 ml. Tulpinile nehemolitice sînt perfect suportate de şoareci, pe aceeaşi cale chiar în doză de 1 ml. Tulpinile hemolitice pun în libertate, în bulionul în care se dezvoltă, produşi toxici pentru şoarece. Astfel, bulionul unei culturi de 40 de ore, eliberat de germeni prin centrifugare, omoară şoarecele, pe cale intravenoasă, chiar în doză de 1/40 ml (unele tulpini). Şoarecii mor după 2—17 ore de la inoculare. Corpii microbieni, omorîţi prin căldură, sînt şi ei toxici pentru animale (şoareci, iepuri).

Peştii inoculaţi cu culturile tulpinilor hemolitice, pe cale intraperitoneală, fac constant o infecţie mortală. Pe cale orală, infecţia nu a putut fi însă reprodusă cu tulpinile cercetate de autori. Niculescu (1945) a obţinut însă rezultate pozitive şi pe această cale.

Stamatin şi colaboratorii (1956) au încercat să reproducă boala la peşti cu filtrate din trituratele de organe infectate sau cu aceleaşi triturate nefiltrate, ci sterilizate prin streptomicină, dar nu au reuşit. Goncearov şi colaboratorii (1946) afirmă însă că boala poate fi reprodusă aplicînd filtratul pe pielea scarificată a peştilor. Autorii citaţi, ca şi Goreglead (1955) găsesc în organele parenchimatoase ale peştilor incluzii de tip virotic. Incluzii de acelaşi tip au fost găsite şi de Dinu (1951) în celulele nervoase ale peştilor morţi cu leziuni de hidropizie. Stamatin şi colaboratorii (1956), într-un studiu anatomo-patologic făcut pe peşti morţi de hidropizie experimentală sau naturală, nu au găsit asemenea incluzii. Autorii constată în cursul acestor cercetări că ceea ce deosebeşte histologic infecţia naturală de cea experimentală este lipsa leziunilor cutanate şi în special a leziunilor intestinale. În infecţia naturală, mucoasa intestinală este constant lezată, ceea ce înseamnă că pătrunderea bacteriei este condiţionată de o lezare a peretelui tubului digestiv. Această lezare ar putea fi produsă de un virus enterotrop, dar şi de alţi factori iritanţi (toxine bacteriene, de exemplu).

Hidropizia infecţioasă, prin caracterul său epizootologic — apare în anumite sezoane şi nu cuprinde tot efectivul — este o boală condiţionată, în care *Ps. punctata* are un rol important. Acest rol reiese şi din constatarea făcută de Stamatin şi colaboratorii (1955), şi anume că vaccinurile preparate din culturi de *Ps. punctata*, varietatea hemolitică, conferă peştilor un grad oarecare de imunitate faţă de infecţia naturală şi chiar faţă de cea experimentală.

Pseudomonas syncyanea (Ehrenberg) Migula, 1895

Germenul a fost descris de Ehrenberg în 1840, sub numele de *Vibrio syncyaneus*, apoi de Fuchs (1841), care îl numeşte *Vibrio cyanogenes*. Alţii sistematicieni îi dau alte nume, ca *Bacillus syncyaneus* (Schöter, 1886), *Bacillus cyanogenus* (Zopf, 1885), *Bacterium syncyaneum* (Lehmann şi Neumann, 1896), *Pseudomonas syncyanea* de la *syn* = cu şi *kyaneos* = albastru-închis, negru.

Germenul măsoară 0,7 microni lăţime şi 2—4 microni lungime, este de aspect colibacilar (de germen intestinal) fără capsulă, nesporulat, cu 1—5 cili polari. Gram negativ.

Se cultivă pe mediile obişnuite. Tulbură bulionul pe care îl colorează iniţial în verzui, mai tîrziu albastru, pînă la verde. Formează un depozit; unele tulpini produc membrană. Pe agar, formează colonii rotunde, lucitoare, iniţial de culoare gălbuie sau gri, albicioase, mai tîrziu brune-albăstrui. Se dezvoltă pe cartof, pe care dă colonii diferite colorate de la un cartof la altul — verzi, albastre-închis, pînă la negre-brune etc.

Fermentează glucoza fără producţie de gaz, dar nu atacă lactoza. Nu produce indol şi nici SH_2. Produce amoniac. Nu este patogen, pentru om sau animale.

Se poate dezvolta în lapte, pe care îl colorează în albastru. Un asemenea lapte, deşi nu este toxic, nu poate fi dat în consum din cauza culorii sale anormale. Poate fi consumat însă de animale.

BIBLIOGRAFIE

BABEŞ V. şi RIEGLER P. — Mortalitatea peştelui de la Herăstrău şi de la Teiul Doamnei din primăvara anului 1902. *An. Academiei Române,* seria II, t. XXV.

BONCIU O. — Studiul asupra bacililor piocianici, patogeni pentru om, izolaţi în Romînia. *Revista ştiinţelor medicale,* 1946, 35, p. 306.

BUŞNIŢA TH. şi POJOGA — Mortalitatea crapului în bălţi, în primăvara anului 1941. *Bul. piscicolturei romîneşti,* 1941, nr. 4.

DINU R. — Cercetări în neuroviroza hidropigenă epizootică a peştilor (hidropizia infecţioasă). *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1951, 2, p. 43.

DINULESCU GH. şi col. — Noi cercetări asupra neurovirozei hiodropigene la peştii din R.P.R. *Lucrările sesiunei ştiinţifice, Secţia ştiinţe medicale a Acad. R.P.R.* 22—24 ianuarie 1954, p. 665.

FARRAG H. şi MAHMOUD A. H. — Otoree la cîine produsă de Ps. aeruginosa, *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 1953, 122, p. 35.

FRANK O. şi col. — Sensibilitatea in vitro a speciilor Bacillus proteus şi Ps. aeruginosa, faţă de şapte antibiotice. *J. Lab. a. Cl. Medicine,* 1950, 35, p. 205.

GORRILL R. H. — Localizarea bacteriilor în rinichi cu referinţe speciale la Ps. pyocyanea. *J. Path. Bact.,* 1952, 64, p. 857.

KNIGHT V. şi col. — Meningita produsă de Ps. aeruginosa; tratament intratecal cu streptochinasa şi streptodornasă şi intramuscular şi intratecal cu neomicină. *J. Am. Med. Ass.,* 1952, 149, p. 1395.

KNOX B. — Ps. aeruginosa, cauză a unei infecţii enzootice la nurci. *Nord. Vet. Med.,* 1953, 5, p. 731.

MASI A. şi DETTORI M. — Asupra unui caz de meningită cu piocianic. *Riv. Clin. Pediat.,* 1953, 52, p. 284.

NEWBERNE P. M. — O gastroenterită bacteriană la iepurii chinchilla. *North Amer. Veter.,* 1953, 34, p. 187.

NICOLAU ST., DINULESCU GH. şi col. — Neuroviroza hidropigenă a peştilor. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1951, 2, p. 53.

NICULESCU AL. — Epizootie de hidropizie infecţioasă la crapi. *Ar. Inst. Cercet. Piscicole,* 1947, 3, p. 221

RADVAN I. — Un caz de infecţie cu bacili piocianici. *Revista ştiinţelor Medicale,* 1944, 33, p. 484.

SCHÄPERCLAUS W. — Fischkrankheiten. *Akademie Verlag,* Berlin, 1954.

SCURTU E. — Izolarea speciei Ps. punctată hemolitică de la broască. *Comunicare, Sesiunea ştiinţifică studenţească, 1957, Fac. med. vet.,* Bucureşti.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi CONSTANTINESCU EL. — Cercetarea unui grup de tulpini de Pseudomonas izolate de la crapii cu hidropizie infecţioasă. *Probleme de microbiologie veterinară,* 1954, nr. 3, p. 8.

STAMATIN N. şi CONSTANTINESCU EL. — Patogenitatea pentru şoarece a tulpinilor de Pseudomonas hemolitica izolate în R.P.R. *Probleme de epizootologie şi microbiologie,* 1955, III, p. 62.

STAMATIN N. şi CONSTANTINESCU EL. — Disocierea în forma S şi R a unei tulpini de Ps. punctata hemolitica. *Probleme de epizootologie şi microbiologie,* 1955, III, p. 66.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi CONSTANTINESCU EL. — Cercetări privind etiologia hidropiziei infecţioase a crapilor. *Probleme de epizootologie şi microbiologie,* 1955, IV, p. 22.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi CONSTANTINESCU EL. — Incercări de imunizare activă în hidropizia infecţioasă a crapului. *Probleme de imunologie veterinară,* 1955, III, p. 15.

STAMATIN N., SOLNITZKY şi CONSTANTINESCU EL. — Modificările anatomo-histologice în hidropizia infecţioasă a crapului. *Probleme de patologie generală şi anatomie patologică,* 1956, III, p. 37.

STOENESCU V., SANDULESCU ST. şi ZARCUSON A. — Pseudomonoza la păsări adulte. *Probleme de epizootologie,* 1955, II, p. 26.

WOHL R. şi FORGEOT P. — Un caz de infecţie naturală a iepurelui cu Ps. aeruginosa. *Bull. Acad. Vét. France,* 1954, 27, p. 147.

WUNDER W. şi DOMBROWSKI — Cercetări asupra hidropiziei infecţioase a crapilor. *Z. f. Fischerei,* 1953, 2, p. 327.

Genul *Haemophilus* Winslow et al, 1920

Caracterele generale ale genului şi speciilor sale. În acest gen sînt incluse cîteva specii bacteriene patogene pentru om sau animale şi care au comun următoarele caractere:

1. celulele sînt de dimensiuni reduse şi formă bacilară fină; nesporulate şi Gram negative; cele mai multe specii sînt necapsulate şi imobile;
2. se dezvoltă, de regulă, numai pe medii care conţin lichide organice, sînge, ser sanguin sau lichid ascitic; multiplicarea lor îndeosebi este favorizată de prezenţa hemoglobinei;
3. speciile sînt mai curînd epifite decît aşa cum le consideră unii cercetători, parazite obligatorii; unele specii produc afecţiuni localizate pe aparatul respirator, iar altele pe tractusul genital;
4. speciile se disting între ele prin factorii de creştere necesari, prin specia animală pe care o parazitează şi organul pe care se localizează, aşa cum se vede în tabelul 35.

Haemophilus suis Hauduroy et al, 1937

Studiat şi socotit ca agent al gripei purceilor de Lewis şi Shope (1931) şi de Kőbe (1933)

Morfologie. Germen polimorf, masurînd 0,5—4 microni lungime şi 0,2—0,3 microni lăţime. Poate forma filamente, care se găsesc, în special, în culturile de 48 de ore. În culturile mai vechi, predomină formele rotunde cociforme.

Este nesporulat, necapsulat, neciliat.

Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se izolează şi se dezvoltă în bulion cu sînge, pe agar cu sînge lacat (încălzit 15 minute la 65—70°C) sau pe agar ciocolat. Acesta din urmă se prepară adăugînd sînge în proporţie de 1/10 într-un agar topit şi încălzit apoi la 90°C.

Dezvoltarea germenului necesită prezenţa, în mediu, a doi factori de creştere: unul numit factorul X care este termostabil şi care a fost identificat cu hemina şi altul factorul V (fosfopiridin nucleotida) care este termolabil şi se găseşte în extracte vegetale, în drojdia de bere şi este secretat şi de majoritatea bacteriilor — în cantitate mai mare de stafilococi. Secreţia acestui din urmă factor, de către unele bacterii, explică de ce coloniile unor hemofilici au dimensiuni mai mari cînd se dezvoltă în apropierea coloniilor altor bacterii, prezentînd ceea ce se cunoaşte sub numele de satelitism. *H. suis* prezintă, de exemplu, satelitism pentru stafilococi. Factorul V, secretat în acest caz de stafilococi, difuzează în mediu şi este utilizat de hemofili. Chimic, factorul V a fost apropiat de cozimaza I sau cozimaza II, care îl pot de altfel înlocui.

Hemina sau factorul X este folosită de hemofili pentru a sintetiza catalaza, ferment care descompune peroxidul. Că aşa stau lucrurile ne-o dove-

Tabelul 35

Caracterele distinctive ale speciilor din genul Haemophilus

Specia bacteriană	Dezvoltare în apă peptonată	Factorii de creştere necesari pentru dezvoltarea în apa peptonată			Specia animală pe care o afectează şi organul pe care se localizează	Numele infecţiei pe care o provoacă sau la care este asociat
		V[1]	X[1]	V+X		
H. suis	—	—	—	+	Porc: aparatul respirator	Gripa purceilor (în asociaţie cu virusul gripal)
H. influentae	—	—	—	+	Om: aparatul respirator	Gripa umană (în asociaţie cu virusul gripal)
H. hemolyticus	—	±	—	+	Om: aparatul respirator	Epifit nepatogen al căilor respiratorii anterioare la om şi bou
H. pertusis	+	+	+	+	Om: aparatul respirator	Tusea convulsivă
H. parainfluentae		+	—	+		Epifit, de regulă nepatogen
H. ducreyi	—	—	+	+	Om: aparatul genital	Şancru moale
H. hemoglobinophilus sau H. canis	—	—	+	+		Epifit: se găseşte în secreţia prepuţială la cîine
H. gallinarum	—	—	+	+	Găină: tractusul respirator	Asociat sau agent primar al corizei găinilor
H. bovis					Bou: aparatul ocular	Cheratită infecţioasă
H. anapestifer					Bobocii de raţă: infecţia septicemică	
H. muris					Şoarece	Edeme şi ulcere ale extremităţilor membrelor

---

[1] Factorul V este fosfopiridin nucleodida, iar factorul X este hemina, un compus care conţine fier.

deşte faptul că hemina poate fi înlocuită cu cisteina, care este ea însăşi un activ reducător al peroxidului.

H. suis este un aerob facultativ. Temperatura optimă de dezvoltare 37,5°C. Tulbură uşor bulionul. Pe agar cu sînge formează colonii mici, transparente.

Proprietăţi biochimice. Fermentează, după unele date, slab şi încet dextroza, galactoza şi maltoza. După Schope, germenul nu atacă nici un zahăr. Nu produce indol. Nu hemolizează globulele roşii.

Rezistenţă. Germen fragil, care este distrus repede prin căldură (în 30 de minute la 50—55°C) sau prin antiseptice. Se distruge în cîteva zile în mediile de cultură; întreţinerea sa în laborator este dificilă şi necesită treceri din 3 în 3 zile.

Patogenitate. Germenul se izolează de pe căile respiratorii ale porcilor sănătoşi şi se găseşte frecvent în leziunile pulmonare gripale. El se asociază cu virusul gripei şi împreună produc tabloul clinic şi anatomopatologic al gripei. Agentul primar al bolii este însă virusul gripal.

În condiţii experimentale, culturile de *H. suis* sînt apatogene pentru porc, dar pot produce, în doze mari şi pe cale intravenoasă sau intraperitoneală, intoxicaţii mortale la şoareci, cobai şi iepuri. Filtratele culturilor de 48 de ore de *H. suis* omoară şi ele iepurele, pe cale intravenoasă, în cîteva ore.

Haemophilus influentae (Lehmann şi Neumann) Winslow et al, 1920

Germenul a fost izolat, pentru prima oară, de Pfeiffer, în 1892, de la oamenii bolnavi de gripă şi considerat de autor ca agentul patogen al acestei infecţii. Cercetările ulterioare au dovedit însă că gripa este produsă de un virus şi că bacteria se asociază şi se multiplică în leziunile produse de virus.

Morfologie. Germenul are formă de bastonaş fin, lung de 0,5—2 microni, lat de 0,2—0,3 microni. În leziuni şi culturi, el poate fi izolat sau grupat cîte doi sau în lanţuri scurte.

Gram negativ, asporulat şi aciliat. Germenii unor tulpini sînt capsulaţi.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe agar cu sînge sau agar ciocolat; pe acest din urmă mediu se găsesc colonii mici, 0,5—1,5 mm izolate. În bulion cu sînge germenul dă o cultură puţin abundentă, sub formă de tulburare uniformă. Nu creşte pe medii — bulion sau agar — fără sînge. Nu se dezvoltă în gelatină.

Germenul este mai curînd un aerob facultativ decît un anaerob. Temperatura optimă de dezvoltare este 37°C, cu limite cuprinse între 20 şi 43°C.

Rezistenţă. Germenul este fragil; se distruge printr-o încălzire de 15—30 de minute la 50—55°C. Sensibil faţă de antiseptice.

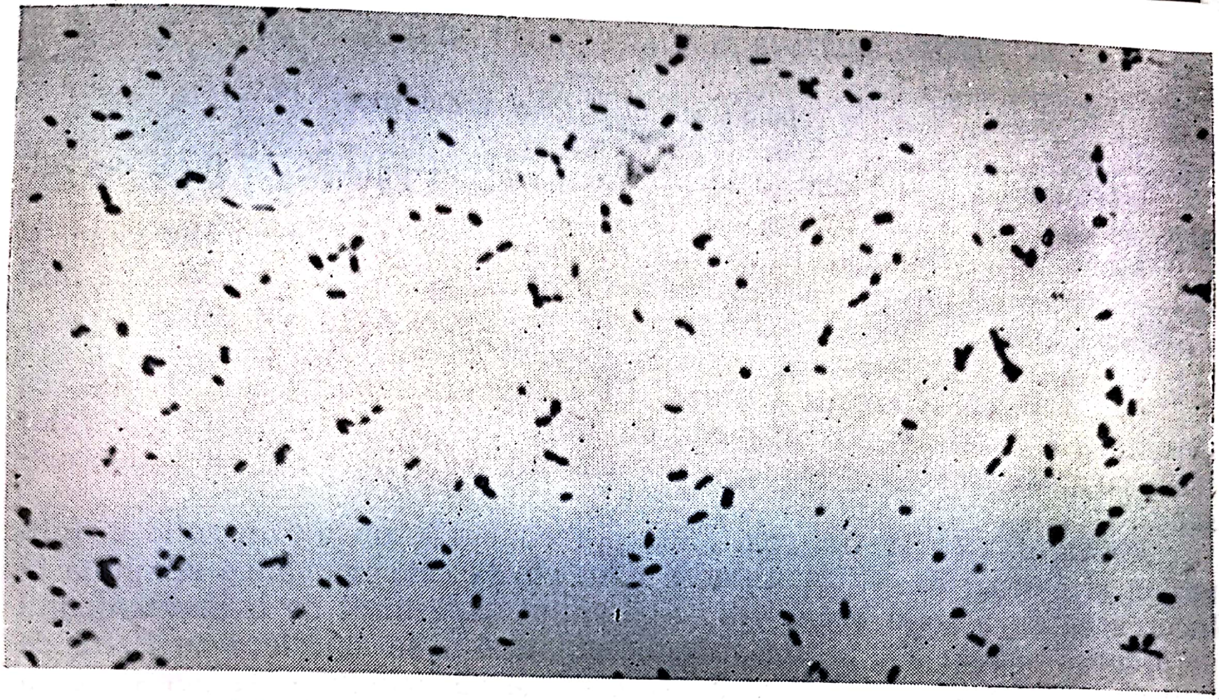


Fig. 57 — *Haemophilus influentae*; × 1 050 (din Jordan-Burrows, 1950)
Cultură pură. Colorație: fucsină

Proprietăți biochimice. Fermentează, de regulă, dextroza, levuloza și galactoza producînd acizi, dar nu gaze. Față de maltoză, zaharoză și dextrină diferitele tulpini nu se comportă la fel ; unele le fermentează, altele nu. Față de lactoză și manită toate tulpinile sînt inactive. Indol se produce de formele R, dar nu de formele S. O tulpină va produce indol în cantitate cu atît mai mare, cu cît va conține mai mulți germeni în faza R. Toate tulpinile reduc nitrații în nitriți.

Structura antigenică. Există, printre formele S mai multe tipuri antigenice (6), care se disting între ele prin reacția de seroprecipitare. Fiecare tip conține un antigen polizaharidic propriu.

Patogenitate. În condiții experimentale, germenii produc, în doze mari (cultura de pe un tub de agar-ser) și pe cale intraperitoneală, o toxiemie mortală în 12—24 de ore la iepuri, cobai și șoareci. Germenul se izolează din lichidul peritoneal, dar nu din sînge. Încorporați în mucină și inoculați intraperitoneal ei produc o septicemie mortală la șoareci. Filtratele culturilor în medii lichide, în doză de 1 ml, produc, în cazul inoculării intravenoase, moartea cobailor și iepurilor. Este probabil că în aceste filtrate este prezent complexul nucleoproteinic. Unele tulpini omoară șoarecele pe cale intracerebrală.

În condiții naturale, *H. influentae* este patogen numai pentru om, izolîndu-se de la acesta din diverse procese patologice ca sinuzite, meningite (la copii), endocardite ulcerative etc. Se poate izola din cavitatea bucală sau nazală de la oameni sănătoși.

Haemophilus pertusis Holland, 1920

Numele comun: *microbul tusei convulsive.*

Germenul a fost izolat şi identificat ca agent patogen al tusei convulsive de Bordet şi Gengou (1906).

Morfologie. Germen fin, alungit, măsurînd 1 micron lungime şi 0,2—0,3 microni lăţime. Nesporulat şi neciliat. Prezintă o capsulă care însă nu se poate pune în evidenţă decît prin metode speciale de colorare.

Gram negativ. Prezintă aproape constant o coloraţie bipolară.

Medii şi caractere de cultură. În momentul izolării se dezvoltă, ca şi ceilalţi hemofili, numai în medii cu sînge (15%). Tulpinile de laborator cresc pe medii cu ser sau lichid ascitic factorii V şi X nemaifiindu-i indispensabili.

Mediul Bordet şi Gengou. Autorii recomandă un mediu solid cu glicerină şi extract de cartof, care se pare că dă cele mai bune rezultate în încercările de a izola bacilul din materialul expectorat de bolnavi. Mediul se prepară astfel: 200 ml de apă glicerinată 4% se amestecă cu 100 g de felii de cartof şi se autoclavează; se decantează lichidul şi se amestecă cu ser fiziologic în proporţie de 50 ml pentru 150 ml de ser fiziologic cu 0,6% clorură de sodiu; la 200 ml de amestec se pun 5 g de geloză; geloza se solubilizează prin încălzire în autoclav, apoi amestecul încă cald se repartizează în tuburi; se sterilizează. Înainte de însămînţare mediul se topeşte şi se amestecă cu un volum egal de sînge de iepure sau om (pentru izolare se preferă sîngele de om). Mediul se solidifică în poziţie înclinată, avînd grijă ca sîngele să fie egal repartizat în tot mediul.

Pe medii solide potrivite, bacilul formează colonii mici, strălucitoare de o culoare albă cenuşie, perlată; mediul cu sînge nu se înnegreşte în jurul coloniilor; apare, însă, în jurul lor, o zonă slabă de hemoliză, în care mediul este roşu-transparent. Tulpinile de laborator dau pe mediile cu sînge sau ser o cultură abundentă asemănătoare celei date de salmonele. Tulpinile de laborator se multiplică şi în medii lichide. Bordet (1931) recomandă ca mediu lichid un amestec în părţi egale de bulion, soluţie de glicerină 1% şi ser de cal. Mediul trebuie încălzit înainte de însămînţare, 45 de minute, la 57°C. Într-un asemenea mediu bacilul se dezvoltă sub forma unui depozit aglutinat, vîscos şi abundent. Acest depozit apare după o incubaţie de 4—5 zile. Mediul lichid pentru a permite dezvoltarea germenului trebuie să fie pus în strat subţire în vase, ca să fie bine aerat. Într-un mediu similar, însă cu ser de iepure, cultura nu mai este aglutinantă, ci este uniform răspîndită în mediu, pentru că serul de iepure, spre deosebire de cel de cal, nu aglutinează germenii.

Germenul se dezvoltă în aerobioză; temperatura optimă este de 37°C.

Proprietăţi biochimice. Bacilul nu fermentează nici un zahar, nu produce indol şi nu reduce nitraţii în nitriţi.

Structura antigenică. Formele S constituie un singur tip antigenic, înrudit cu cel al *H. parapertusis* şi *H. bronchisepticus;* cele R formează mai multe tipuri.

Patogenitate. In condiţii experimentale, bacilul produce la animalele de experienţă tulburări asemănătoare celor provocate de *H. influentae.* Bordet a extras din corpii bacterieni endotoxine patogene pe cale intraperitoneală şi în doze mari (0,25—2 ml), atît pentru cobai, cît şi pentru iepure. Pe cale cutanată, endotoxina produce un edem hemoragic local urmat de necroză şi ulcer.

În condiţii naturale, bacilul produce la om, în special la copii, infecţia cunoscută sub numele de tuse convulsivă.

Profilactic, se foloseşte, pe scară întinsă, imunizarea activă cu ajutorul unui vaccin inactivat şi foarte bogat în corpi bacterieni (20—80 miliarde de germeni pe 1 ml).

Haemophilus ducreyi (Neveu-Lemaire) Bergey et al, 1923

Izolat de Ducrey şi identificat ca agent patogen al şancrului moale la om.

Morfologie. Se prezintă, de regulă, ca un bastonaş, măsurînd 1,5—2 microni lungime şi 0,5 microni lăţime. În culturi, ca şi în materialul patologic, poate fi izolat sau grupat în lanţuri scurte ; în medii lichide formează filamente.

Nesporulat, necolorat şi necapsulat.

Gram negativ. Se colorează aproape numai bipolar.

Medii şi caractere de cultură. Pentru izolare şi întreţinere în laborator se folosesc medii solide (agar nutritiv) cu sînge defibrinat de iepure. Se poate adăuga la acest mediu şi amidon 1%, ceea ce prelungeşte viabilitatea culturilor în laborator.

Pe suprafaţa mediilor solide, germenul formează, după o incubaţie de 24 de ore, colonii albe-cenuşii, cu suprafaţa netedă strălucitoare şi cu diametrul de 0,5—1 mm. Prin învechire, diametrul coloniilor creşte (2 mm) şi centrul lor se poate înfunda, avînd, în acest caz, aspect crateriform.

Germenul este aerob. Temperatura optimă de dezvoltare este 37°C.

Patogenitate. În condiţii naturale produce la om o infecţie genitală — şancrul simplu sau şancrul moale — transmisibilă prin contact sexual. Patogen pentru maimuţe.

Haemophilus bronchisepticus (Ferry) Topley şi Wilson, 1946

Sinonime: *Brucella bronchiseptica* (Ferry) Topley şi Wilson, 1931; *Bacillus bronchisepticus* Ferry, 1911. *Bacterium bronchicanis* Holland, 1920. Izolat pentru prima oară de Ferry de la cîini bolnavi de jigodie.

Morfologie. Germen asemănător celorlalţi hemofili, de care se deosebeşte prin faptul că este mobil, celulele fiind prevăzute cu 4—6 cili dispuşi peritrich.

Nesporulat şi necapsulat.

Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă în aerobioză, pe medii obişnuite; pe agar formează colonii mici, rotunde, bombate, cu suprafaţa netedă, de culoare albă ca porţelanul; în bulion produce tulburarea mediului, membrană şi depozit.

Proprietăţi biochimice. Nu fermentează substanţele hidrocarbonate, reduce nitraţii produce cantităţi reduse de NH_3 şi SH_2. Reacţia pentru catalază este intens pozitivă. Hemolizează globulele roşii de cobai, iepure şi cîine.

Patogenitate. Germenul inoculat în doză mare, pe cale intraperitoneală, la cobai, produce o peritonită mortală în 1—2 zile. În condiţii naturale, el este izolat fie din pulmonul cîinilor bolnavi de jigodie şi avînd leziuni de bronhopneumonie, fie din bronhopneumoniile întîlnite la rozătoare.

Haemophilus gallinarum Eliot şi Lewis, 1931

Asemănător cu speciile precedente. Se dezvoltă în ouăle embrionate. Se izolează de pe mucoasa căilor respiratorii de la păsările cu coriză şi este socotit ca agent al acestei afecţiuni de De Blieck (1932).

Hemophilus moniliformis

Specie descrisă de Levaditi şi colaboratorii (1925) sub numele de *Str. moniliformis.* În Bergey (1948) îl găsim apropiat de genul *Haemophilus,* păstrîndu-i-se numele dat de descoperitorii săi. În Topley şi Wilson îl găsim sub numele de *Actinomyces muris.* Levaditi şi colaboratorii au izolat prima tulpină de la un om cu o stare febrilă, septicemică, asociată cu angină şi dureri articulare.

Morfologie. Germen extrem de polimorf, prezentîndu-se sub formă cocobacilară, bacilară şi filamentoasă; pe traiectul filamentelor se întîlnesc umflături. Se disociază cu uşurinţă, dînd forme L, care au fost studiate de Klieneberger şi alţi cercetători (vol. I, p. 123).

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă pe medii care conţin lichide organice, sînge, ser sau lichid ascitic. Culturi abundente se obţin pe mediul solid folosit de Bordet pentru cultivarea speciei *H. pertusis,* precum şi în bulion amestecat cu gălbenuş de ou. Creşte în mediul Veillon.

Pe suprafaţa agarului formează colonii mici, albe, care sînt vizibile după o incubaţie de 3 zile la 37°C. În mediul Veillon se constituie colonii mici punctiforme, în profunzimea mediului; germenul se dezvoltă slab la suprafaţa mediului Veillon. Se dezvoltă abundent în bulion cu lichid ascitic şi extract globular.

Facultativ anaerob. Se dezvoltă mai bine în anaerobioză şi în prezenţa CO_2 decît în aerobioză.

Patogenitate. Germenul este patogen în condiţii experimentale, pentru şoareci, la care, în urma inoculării intraperitoneale, produce o infecţie mortală în 1—2 zile. În condiţii naturale provoacă la şoarece o afecţiune cu caracter epizootic, manifestîndu-se prin artrite, conjunctivite şi adenite. Nepatogen pentru cobai. La iepure, pe cale intravenoasă, poate produce inflamaţii articulare. La om, produce o infecţie eritematoasă cunoscută şi sub numele de febră de Haverthill. Boala se transmite prin muşcătura şobolanilor.

BIBLIOGRAFIE

PFEIFFER — *Z. f. Hyg.*, 1893, 13, p. 357.

BORDET J. şi GENGOU — Microbul tusei convulsive. *Ann. Inst. Pasteur,* 1906, 20, p. 731.

BORDET J. — Bacilul tusei convulsive, în Nattan-Larrier, Traité de Microbiologie, Paris, 1934, vol. II, p. 773.

LEWIS şi SHOPE — *J. Exp. Med.*, 1931, 54, p. 361.

KÖBE — *Zbl. f. Bakt.*, O. 1933, 129, p. 161.

DE BLIECK — *Vet. Jour.*, 1932, 88, p. 9.

FERRY — *J. inf. Dis.*, 1911, 8, p. 402 şi *Amer. Vet. Rev.*, 1912, 41, p. 79.

LEVADITI C., NICOLAU ST. şi POINTCLOUX P. — *C. R. Acad. Sci. Paris,* 1925, 180, p. 1188.

SUBGRUPA BACTERIILOR NESPORULATE ŞI GRAM POZITIVE

Genul *Erysipelothrix* Rosenbach, 1909

Erysipelothrix rhusiopathiae (Kitt) Holland, 1920

Sinonime: *Bacilus rhusiopathiae suis,* Kitt, 1893. *Bacterium erisepelatos suum* Migula, 1895.

Numele comun: bacilul rujetului sau brîncei porcului *(Rhusiopatia suis).*

Bacilul rujetului produce în mod spontan la porc o infecţie acută, numită rujet sau brîncă, care înainte de izolarea şi cunoaşterea agentului etiologic era confundată cu celelalte infecţii ale porcului. Astfel, Cornil şi Babeş, în tratatul lor Les bactéries din 1885, consideră rujetul porcului identic cu holera porcului, cu pneumoenterita, febra enterică etc. şi consideră ca leziuni rujetice atît ulcerele necrotice de pe mucoasa valvulei ileo-cecale, cît şi pneumoniile şi pleuritele provocate de diverşi germeni.

Pasteur şi Thuiller dau, în 1882, ca agent al rujetului un microb rotund, cocoid, probabil o pasteurelă. Bacilul rujetului este izolat 1 an mai tîrziu (1883) tot de Pasteur şi Thuiller. Culturile pe care le-au obţinut au fost inoculate la animalele de laborator, punîndu-se în evidenţă în acest chip patogenitatea germenului pentru iepure şi porumbel. În 1886, Löffler studiază îndeaproape germenul descriindu-i caracterele morfologice, culturale şi biologice.

Caractere morfologice şi afinităţi tinctoriale. Bacilul rujetului se prezintă ca un bastonaş subţire, drept sau încurbat lung de 0,5—1,5 microni şi lat de 0,2 microni.

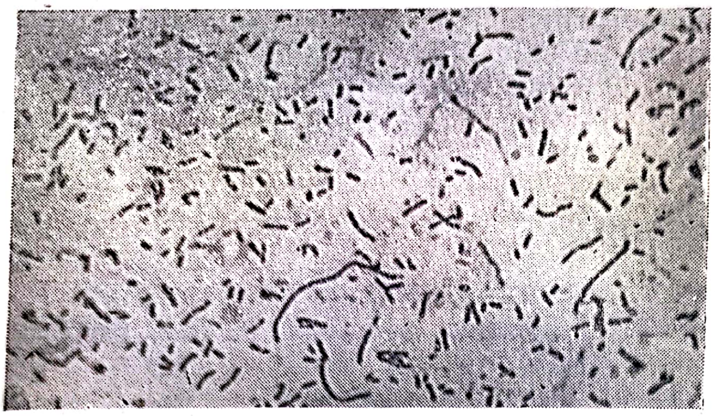


Fig. 58 — Erysipelothrix rhusiopathiae
Frotiu din bulion. Colorație: Gram

Alături de aceste forme tipice se întîlnesc și alte aspecte, în special filamente, neregulate ondulate și de lungimi variabile. Uneori două filamente se răsucesc unul în jurul altuia, dînd aspectul unei împletituri. Aceste formații sînt mai frecvente la unele tulpini ca la altele și par a fi legate de procesele de variație ale microbului. Astfel, așa cum a arătat Meyn (1931), germenii variantelor R sînt filamentoși, iar cei ai formelor S au aspect bacilar. Constituția mediilor de cultură are o influență importantă în formarea filamentelor. Acestea sînt mai frecvente în mediile sărace în principii nutritivi, decît în cele bogate, în mediile cu ser sau bilă, ca în cele în care lipsesc asemenea substanțe, în culturile vechi, ca în cele proaspete. În leziunile cronice de cele mai multe ori se întîlnesc bacili lungi, ondulați. În frotiuri se pot găsi uneori, bacili grupați în lanțuri scurte ; această dispoziție este rară și nu are nimic caracteristic. Unii cercetători admit că bacilii rujetului constituie muguri și ramuri laterale. În mediile obișnuite de cultură, asemenea formații lipsesc.

Bacilul rujetului este imobil, nu formează spori și nici capsulă. Este Gram labil ; pentru a-l colora după metoda Gram simplă este nevoie să prelungim durata de acțiune a violetului de gențiana și să decolorăm foarte puțin cu alcool-acetonă. Prin încălzirea pe lamă a violetului de gențiană se poate scurta durata colorației. Un alt procedeu folosit pentru a evita decolorarea bacilului rujetului este acela de a înlocui în metoda Gram alcool-acetona prin alcool-acetonă iodată (se adaugă cîteva picături de Lügol la soluția de alcool-acetonă).

În general, bacilii din culturi se decolorează mai ușor ca cei din organe.

Albastrul de metilen, fucsina diluată, colorează bine și repede acest bacil.

Rezistență. Fiind un germen asporulat, bacilul rujetului este relativ ușor distrus de factorii fizici și chimici. Temperatura de 55°C îl omoară în 5 minute. Soluții antiseptice sînt active; astfel, chinozolul, în diluție de $^1/_{200}$, omoară o cultură de rujet în 5 ore, acidul fenic, în concentrație de $^1/_{100}$, îl omoară în 4 ore ; formolul, diluat $^1/_{500}$—$^1/_{1\,000}$, sterilizează o cultură în $7^1/_2$ ore la 37°C ; în diluție de $^1/_{2\,000}$ sterilizarea se face în 24 de ore ; diluțiile mai mari de $^1/_{4\,000}$ și $^1/_{8\,000}$ sînt inactive chiar în 24 de ore (Mara). Penicilina inhibă multiplicarea bacilului în concentrație de 0,2 U.I. pe 1 ml (Tusko și Kraveț, 1951). Bacilul rujetului se conservă mult timp în culturi și chiar în cadavre. Stickdorn transplantează germenii dintr-o cultură veche de 17 ani, iar Isopescu dintr-una de 11 ani. Din cadavre, bacilul a putut fi izolat chiar 280 de zile după îngropare. În carnea sărată sau afumată, germenul se conservă cîteva luni, fără a pierde din puterea sa patogenă inițială. Bacilii se conservă în organe, la temperatura de —20°C, timp de 50 de zile, fără a se atenua. În mediile de cultură care se acidifică în cursul multiplicării numărul germenilor pe unitatea de volum scade foarte repede. Culturile se conservă în laboratoare, pe medii lichide și la temperatura camerei. În aceste condiții este necesar ca transplantările să se facă din 30 în 30 de zile, deși durata de conservabilitate depășește cu mult acest interval.

Caractere de cultură. Bacilul se dezvoltă repede în mediile obişnuite de cultură. În bulion el produce, în 24 de ore, la 37°C, o tulburare uniformă a lichidului. Prin agitare, apar în mediu valuri sau unde caracteristice. Astfel, cultura, uniform tulbure, îşi pierde prin agitare omogenitatea, apărînd zone sinuoase, diferit luminate, care își schimbă mereu aspectul.

Gradul de opacifiere a mediului și undele ce se produc prin agitare sînt indicații prețioase pentru diagnosticul speciei. Mediul, prin învechire, tinde să se clarifice, germenii depunîndu-se pe fundul tubului, unde constituie un depozit de dimensiunile și forma unui bob de linte. Germenii din depozit, în general filamentoşi, aderă între ei ca şi de fundul tubului. Această aderență face ca depozitul, prin agitare, să se ridice în sus, constituind un fir care traversează lichidul din fund pînă la suprafață.

Coloniile rezultate dintr-o însămînțare abundentă, pe suprafața agarului, sînt mici ca vîrful de ac, bombate, cu marginile și suprafața netedă (examen microscopic), incolore. Coloniile, în cazul cînd se dezvoltă izolat pe suprafața agarului, ating dimensiuni mai mari, 1 mm sau mai mult și sînt colorate în albastru-gri. Suprafața și marginile coloniilor de bacili rujetici sînt de regulă netede, deci de tip S. Alături de acest tip de colonii se întîlnesc și altele de aspect R, cu suprafața și marginile aspre (Meyn, 1931). Coloniile de tip R se nasc din coloniile de tip S. S-a observat cum uneori pe marginea coloniilor S se desfășoară, în evantai, ieșind afară din perimetrul coloniei S, forme R. Colonia S și R împreună au aspectul unui vas cu flori; vasul îl constituie colonia S, iar planta cu florile colonia R. Germenii R dau culturi aglutinate în bulion. Pe suprafața coloniilor vechi de tip S pot apărea butoni de formația secundară, vizibili numai cu lupa.

În gelatină, prin înțepătură, germenii se multi-

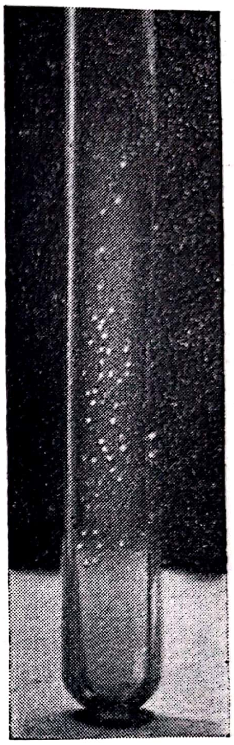


Fig. 59 — Erysipelothrix rhusiopathiae
Aspect cultural pe agar înclinat

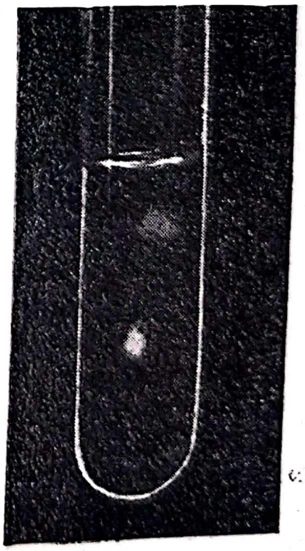


Fig. 60 — Erysipelothrix rhusiopathiae
Aspect cultural în bulion gelozat 0,1 %

plică, şi masa microbiană de culoare galbenă-gri îmbracă uneori aspectul unei perii de spălat eprubete.

Bacilul nu creşte pe cartof, în aerobioză; se multiplică pe acest mediu, şi numai într-o mică măsură în anaerobioză.

Glucoza favorizează multiplicarea bacilului; într-adevăr în bulion cu glucoză se obţin culturi foarte dense; numărul germenilor vii pe unitatea de volum scade însă repede, din cauza acidifierii mediului.

Reducerea concentraţiei de oxigen din mediu nu influenţează multiplicarea bacilului; în bulion cu carne (Tarozzi) se obţin culturi tot aşa de abundente ca în bulionul simplu. Bacilul rujetului este deci un microaerofil.

Tiffany şi colaboratorii (1954) prepară un mediu pe care îl socotesc foarte proprice atît cultivării, cît şi întreţinerii bacilului. Mediile sub formă semilichidă sau solidă se pretează la numărarea germenilor dintr-o cultură.

Bacilul rujetului se multiplică în limite largi de temperatură; temperatura optimă este de 37°C; la 6°C bacilul se dezvoltă şi cultura devine vizibilă în cîteva zile.

pH-ul optim = 7,5—7,8.

Ecologie. Bacilul rujetului este foarte răspîndit în natură. Se afirmă că el se găseşte şi chiar se multiplică în anumite soluri (Hesse, 1923, Marmorstein, 1924), ceea ce nu pare însă a corespunde realităţii. Într-adevăr, Stamatin şi colaboratorii (1956) examinînd mai multe tipuri de soluri, pe care după sterilizare au depus suspensii de bacili rujetici, constată că germenii se distrug, în aceste condiţii, relativ repede, de la cîteva zile la cîteva săptămîni. În solurile acide, bacilii dispar mai repede ca în cele neutre sau uşor alcaline. După aceste date, vegetarea bacilului în solul ca atare nu pare posibilă. În mod sigur el se găseşte şi a putut fi izolat din organismul diverselor specii animale şi trebuie socotit, în consecinţă, mai curînd un epifit decît un bacil teluric. Astfel, materialul recoltat din amigdale, de la porcii sacrificaţi în abator, produce, de regulă, la porumbei uneori o infecţie rujetică, alteori o infecţie pasteurelică, ceea ce înseamnă că bacilul rujetului este destul de frecvent în farinxul porcinelor. De asemenea, Spears (1954) examinînd femurul de la 348 de porci sacrificaţi sănătoşi izolează din măduva osoasă bacilii rujetului, în proporţie de 52,8% prin culturi şi în proporţie de 36,1% prin inoculări la animalele receptive. Arsov (1955) găseşte că în Bulgaria procentul de porci purtători de bacili rujetici în amigdale este de 78,9%. Bacilul a fost găsit şi la alte specii de animale. Astfel Cernăianu şi Popovici (1930) îl izolează de la iepuri normali, iar Wellmann (1951) l-a găsit pe tegumentul peştilor de mare sau de apă dulce, precum şi în organismul unor amfibii. Bacilii izolaţi de la poikiloterme erau patogeni pentru şoarece şi porc şi imunizau animalele faţă de germenii izolaţi din infecţiile rujetice ale porcului. Cernea şi Butură (1956) găsesc şi izolează bacilul rujetului din amigdalele de la bovine sacrificate în abator. Procentul animalelor purtătoare găsit de autori a fost destul de mare: 3,7% pentru 240 de bovine examinate.

Proprietăți biochimice. Bacilul fermentează, aproape constant, cu producție ușoară de acid, glucoza și lactoza, după unii autori, și maltoza și zaharoza. Wynohradnyk și colaboratorii (1953), examinînd 135 de tulpini izolate în R.P.R., au obținut, după observarea culturilor timp de 14 zile, rezultatele consemnate în tabelul 36.

Tabelul 36

	Numărul tulpinilor care au fermentat zaharul	Numărul tulpinilor care nu au fermentat zaharul
Glucoza	132	3
Lactoză	126	9
Maltoza	44	91
Zaharoza	0	135
Arabinoza	70	65
Xiloza	88	47
Manita	0	135

Reiese, din aceste date, că însușirile zaharolitice sînt foarte variabile. Este de remarcat totuși, că nici o tulpină nu a fermentat zaharoza și manita și că în marea lor majoritate tulpinile au fost active față de glucoză și lactoză.

Bacilul produce, de regulă, hidrogen sulfurat. Wynohradnyk și Papadopol găsesc o singură tulpină neproducătoare de H_2S din 142 de tulpini examinate.

Bacilul rujetic nu produce indol.

Reduce nitrații în nitriți.

Unele tulpini reduc total albastrul de metilen, în diluție de $^1/_{10\,000}$ în mediul de cultură. În general, formele S reduc mai intens albastrul de metilen decît formele R.

Hemolizează slab globulele roșii.

Unele tulpini lichefiază gelatina, așa cum a arătat Vîșelevski, care a observat și unele relații între tipul de creștere în gelatină și lichefierea acestui mediu.

Structura antigenică. Primele observații, privind existența unor diferențe de structură antigenică, între diversele tulpini de bacili rujetici, au fost făcute de Watts (1940). Autorul folosind seroaglutinarea cu antigen fiert și examinînd prin acest test 43 de tulpini constată că 38 aparțin unui tip (I) și 5 altui tip (II). Toate aceste tulpini conțineau însă un antigen termolabil comun, ceea ce face ca seroaglutinarea cu antigen viu să nu permită distincția celor două tipuri.

Traub (1949), Dedié (1950) etc. introduc în determinarea tipurilor de bacili rujetici reacția de seroprecipitare, folosind ca antigen un extract chimic care se obține în felul următor : culturile în bulion de 24 de ore se centrifughează ; depozitul obținut se ia cu apă fiziologică, astfel ca să se obțină o suspensie densă ; suspensia se amestecă apoi cu un volum egal de acid clorhidric $n/_{10}$; amestecul se lasă peste noapte la ghețar, apoi se centrifughează ; lichidul supernatant se decantează și se neutralizează cu soluție de sodă pînă la roz cu roșu fenol ; lichidul poate fi folosit pentru executarea reacției, care se face depunînd serul și antigenul în tubul de reacție, în două straturi distincte.

Reacția de seroprecipitare a permis autorilor citați să identifice între tulpinile cercetate două tipuri, pe care le numesc A și B ; în plus, ei semnalează prezența unor tipuri intermediare (tip N). Traub constată că tipul B are o valoare imunizantă superioară tipului A.

Dinter (1949) observă că unele tulpini de bacili rujetici aglutinează globulele roşii. Dinter, Dedié şi alţii demonstrează că tulpinile hemaglutinante au o valoare imunizantă mai mare ca tulpinile nehemaglutinante.

Wynohradnyk şi Papadopol (1953) au cercetat din aceste diverse puncte de vedere, un număr însemnat de tulpini izolate în R.P.R. În ceea ce priveşte reacţia de seroprecipitare ei constată că din 132 de tulpini examinate, 124 sînt de tipul A, 1 de tipul B şi 7 nu erau precipitate nici de serul anti- A, nici de serul anti- B. În ceea ce priveşte hemaglutinarea, autorii constată că din 132 de tulpini examinate 3 (1 de tip B şi 2 de tip A) erau puternic şi constant hemaglutinante (titru $^1/_{32}$), 16 erau mai puţin constant, 16 hemaglutinau slab şi inconstant, iar 97 nu aglutinau globulele roşii.

Autorii au examinat şi valoarea imunizantă a vaccinului inactivat şi adsorbit, preparat cu diverse tulpini, constatînd că tulpina tipului B, gelatinolitică şi puternic hemaglutinantă, este cea mai activă din acest punct de vedere, urmează apoi o tulpină de tip A, care este la fel de puternic gelatinolitică şi hemaglutinantă, dar observă că şi o tulpină atenuată (tulpina vaccinală a Institutului Pasteur), nehemaglutinantă şi neprecipitabilă printr-un ser de tip, are o însemnată valoare imunizantă. Tulpinile nehemaglutinante şi negelatinolitice au însă, în general, o slabă valoare imunizantă.

INFECŢIA RUJETICĂ

Bacilul rujetului nu pune în libertate, in vitro, principii toxici. Într-adevăr, filtratul culturilor în bulion este inofensiv pentru animalele de experienţă, iar germenii morţi sînt suportaţi de animale în cantităţi considerabile. Unii cercetători admit că bacilul secretă, in vivo, unele substanţe toxice. Vallée observă că iepurii cărora le introduce în cavitatea peritoneală saci de colodiu cu cultură slăbesc şi mor. Starea animalelor caşectizate se remediază dacă se scot din cavitatea peritoneală sacii de colodiu. Biró (1933) a semnalat prezenţa în filtrate a unor substanţe imunizante, probabil de tip agresinic. Infecţia experimentală şi naturală evoluează şi se termină prin septicemie, constatîndu-se o înmulţire considerabilă a bacililor în sînge şi organe. Aceste date arată că patogenitatea germenului se datoreşte, în mare parte, dacă nu exclusiv, capacităţii sale de invazie.

Infecţia experimentală. Şoarecele, porumbelul şi iepurele sînt sensibili la infecţia rujetică experimentală, făcută cu bacilii din culturi sau cu triturate de organe provenind de la animale moarte de rujet. Doza minimă mortală de cultură variază de la o specie animală la alta şi, pentru aceeaşi specie, de la o tulpină la alta. Tulpinile, izolate de la porcii morţi în urma unei infecţii spontane au un însemnat grad de patogenitate. Virulenţa tulpinilor se pierde uneori foarte repede pe mediile artificiale de cultură; alteori ea se conservă pe aceste medii nealterate un timp îndelungat.

Şoarecele. Tulpinile de virulenţă plină omoară după unii autori şoarecele, pe cale subcutană, chiar cu a 10-a miliarda parte din 1 ml de cultură de 24 ore în bulion. Tulpini cu o asemenea virulenţă par a fi rare, cel puţin în R.P.R. După observaţiile noastre, cele mai multe tulpini, chiar imediat după izolare, omoară şoarecele cu a 10-a milioana parte, dar nu cu a 100-a milioana parte din 1 ml dintr-o asemenea cultură. Moartea se produce după 2—5 zile de la infecţie.

Porumbelul, a cărei receptivitate faţă de bacilul rujetului a fost demonstrată de Pasteur şi Thuillier (1883), are aproximativ aceeaşi sensibilitate ca şi şoarecele; a 10-a milioana sau chiar a 100-a milioana parte din 1 ml de cultură de 24 de ore în bulion îl omoară în 2—5 zile. Patogenitatea variază însă în limite destul de largi de la o tulpină la alta. Astfel, Vlădeanu-Papadopol titrînd, scurt timp după izolare, 27 de tulpini izolate în R.P.R. a găsit că doza minimă mortală pentru porumbel era:

10^{-5} ml pentru 3 tulpini
10^{-6} ml pentru 8 tulpini
10^{-7} ml pentru 10 tulpini
10^{-8} ml pentru 6 tulpini

Animalele au fost inoculate pe cale intramusculară, cu cultură de 24 de ore în bulion, la 37°C. Nu se poate preciza încă cum se comportă, din punct de vedere epizootologic şi clinic, tulpinile foarte virulente pentru porumbel, în raport cu cele mai puţin virulente. Este foarte probabil că rujetul produs de tulpini de mare virulenţă are un mai pronunţat grad de contagiozitate şi evoluează mai malign, în comparaţie cu cel produs de tulpini cu o patogenitate mai redusă.

Iepurele este mult mai rezistent ca şoarecele şi porumbelul; inoculările subcutane produc, de cele mai multe ori, un eritem local, şi numai rareori moartea; pe cale intravenoasă, bacili virulenţi, în doză de 0,5—1 ml de cultură de 24 de ore în bulion, provoacă însă regulat o septicemie mortală.

Cobaiul, găina, pisica, cîinele sînt practic refractare.

Ghenădescu (1942), blocînd sistemul reticulo-endotelial prin injecţii cu tuş, reuşeşte însă să infecteze cobaiul, pe diferite căi. Infecţia, în aceste condiţii, are o evoluţie mortală la un procent de peste 50% de cobai.

Palmipedele — raţele şi gîştele — inoculate cu culturi virulente, în doze mari, se infectează şi mor.

Calul. Bacilii virulenţi, inoculaţi în repetate rînduri, în doze mari, pe cale intravenoasă, se pot localiza pe endocard sau articulaţii, provocînd endocardite şi artrite; animalele, în urma acestor leziuni, se caşectizează şi mor.

Boul este practic refractar. Se citează totuşi unele experienţe, care arată că inoculat la vaci gestante, bacilul poate produce avort.

Porcul, animal prin excelenţă sensibil faţă de infecţia naturală, nu poate fi decît greu infectat în condiţii experimentale. Löffler (1886), de exemplu, nu a reuşit să infecteze decît un porc din 13, deşi a variat şi doza şi tulpina; unii dintre aceşti porci au fost inoculaţi cu bacili din culturi, alţii cu bacili provenind direct de la şoareci infectaţi experimental. Inocularea s-a făcut pe cale subcutană. Se admitea că aceste rezultate negative sînt datorite unei rezistenţe căpătate pe cale naturală, de porcii în experienţă, dar s-a observat, mai tîrziu, că în Australia, unde rujetul la porci nu este cunoscut decît din 1938 şi unde deci nu s-au făcut vaccinări antirujetice şi nici infecţia naturală nu a putut crea stări de imunitate, nu s-a reuşit să se infecteze porcii, pe cale intravenoasă, cu culturi pure de rujet, în doze de 3,5—5 ml sau chiar 50 ml.

Experimentîndu-se paralel, pe porci sănătoşi şi porci cu stări avitaminotice, infecţia s-a transmis la aceştia din urmă, dar nu la cei dintîi. Această constatare nu are însă legături prea strînse cu modul de producere a infecţiilor naturale; într-adevăr, epizootiile de rujet apar de regulă în timpul verii, cînd animalele primesc o hrană bogată în vitamine, în timp ce iarna, cînd animalele suferă de carenţă alimentară. cazurile sînt sporadice sau lipsesc cu desăvîrşire.

Rezistenţa porcilor faţă de infecţia experimentală reiese şi din observaţia că folosirea pe cale largă a tulpinilor virulente, în vaccinarea porcilor, nu a produs decît rar accidente. Rarele accidente ce s-au semnalat sînt atribuite sensibilităţii deosebite a animalelor vaccinate, sensibilitate legată de rasă, vîrstă, stare generală etc. Se constată astfel că porcii albi şi lipsiţi de păr sînt mai sensibili ca cei cu pielea pigmentată şi cu o bogată dezvoltare piloasă; purceii tineri, de lapte, ca şi porcii trecuţi de 1 an sînt mai rezistenţi ca animalele care se găsesc în perioada de plină creştere, în vîrstă de 4—10 luni; animalele importate, în criză de aclimatizare, sînt mai sensibile decît cele autohtone.

În vederea producerii infecţiei experimentale la porci s-a făcut apel şi la alte căi de administrare. Astfel, se constată că depunerea culturii pe pielea uşor scarificată produce constant infecţia dacă tulpina folosită este recent izolată de la un porc cu rujet spontan şi septicemic; din contra, rezultatul este negativ, dacă tulpina este izolată dintr-o leziune cronică. În general, se pare că dificultăţile de reproducere a infecţiei experimentale la porc sînt legate mai mult de tulpină, decît de animal. Sînt tulpini care inoculate parenteral produc constant infecţia.

Încercările de a transmite infecţia prin ingestia culturilor sau organelor care conţin bacilii rujetului au dat rezultate pozitive unor cercetători, negative altora, ceea ce înseamnă că materialele folosite (materialul virulent şi animalul de experienţă) nu au fost identice.

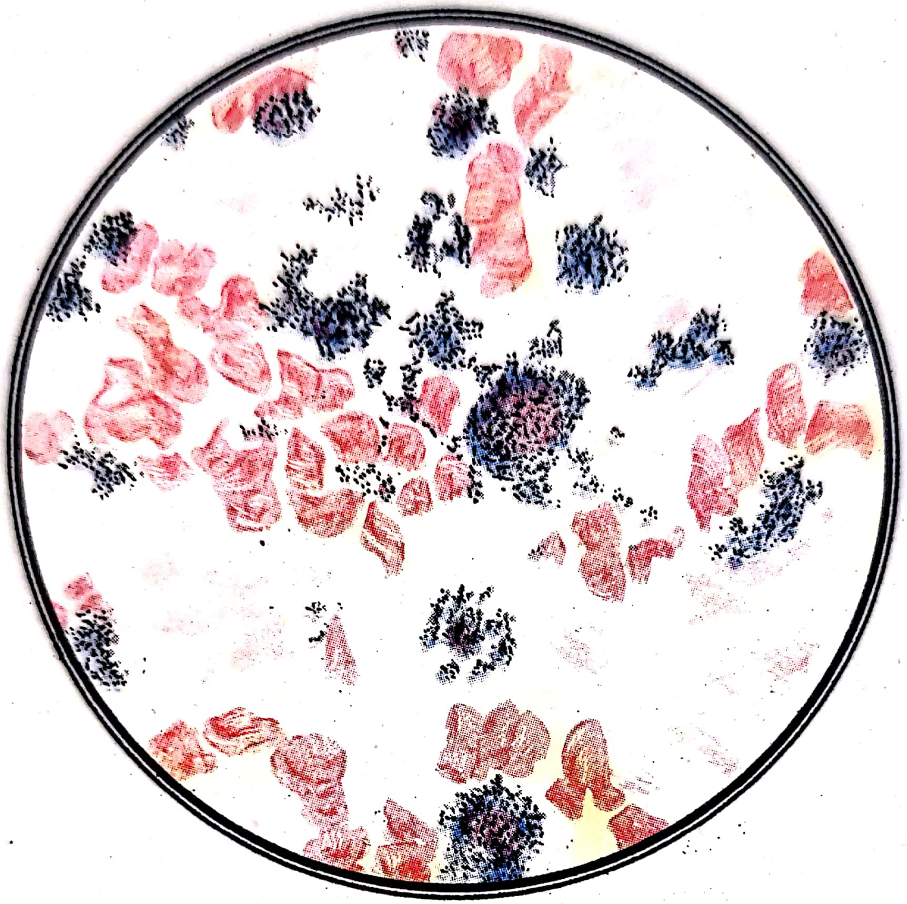
Popovici şi Varachiu (lucrare inedită) reuşesc să transmită infecţia, sub forma de rujet cutanat, la porcii care se găseau în stare de somn medicamentos.

INFECŢIA NATURALĂ

Arie geografică. Rujetul este o boală foarte răspîndită, mai ales în zonele temperate din emisfera nordică. El este frecvent întîlnit în America de Nord şi ţările europene, dar este foarte rar găsit în Australia, Africa de Nord şi în Uniunea Sud-Africană. În ultima ţară, primul caz a fost descris de-abia în 1944. În ţara noastră, ca şi în ţările din jur, infecţia rujetică este foarte răspîndită. În Bulgaria, după Kujumgiev (1940), focarele de rujet sînt localizate în zonele de sud-vest şi nord-est ale ţării, autorul considerînd că infecţia difuzează din ţările vecine.

Materialul infecţios. Bacilul rujetului a fost izolat din organismul porcului dar şi din pămînt, bălegar, apă, de unde poate fi ingerat o dată cu

PLANŞA V



Erysipelothrix rhusiopathia

Secţiune prin ficat de porumbel. Coloraţie: Gram

(desen: *Cerni*)

alimentele, de diverse specii animale. Din tubul digestiv, bacilul trece în organism, și Buss (1952), examinînd 2 011 probe de carne, provenind de la porcii tăiați în abator, a izolat bacilul rujetului într-un procent de 17,8%. Procentul cel mai ridicat de carne infectată a fost găsit în cursul lunii noiembrie. Reiese din aceste date că există un contact permanent între organismul porcului și bacilul rujetului. Acest contact nu se manifestă printr-o infecție clinică decît în anumite condiții.

Poarta de intrare. Bacilii pătrund în organism, în mod obişnuit, pe cale digestivă. Pătrunderea prin unele soluții de continuitate ale pielii nu poate fi exclusă. De asemenea, insectele hematofage ar putea interveni în transmiterea infecției. De exemplu, Tolsteak (1956) obține în condiții experimentale rezultate pozitive, cu unii stomocși (*Stomoxys calcitrans*).

Patogenie. Condițiile de apariție a infecției rujetice nu sînt cunoscute și încă nu s-a găsit o explicație a caracterului, uneori evident contagios, al infecției naturale.

Care sînt factorii care asigură infecției spontane această transmitere regulată? Se admitea că epizootiile de rujet ar coincide cu o multiplicare a acestor germeni în natură, multiplicare favorizată de unii factori climatici — căldură, umiditate etc. Această explicație nu este satisfăcătoare; într-adevăr, este greu de presupus că un porc ar putea ingera, o dată cu alimentele, cantități de germeni comparabile ca număr cu cele care pot fi administrate în condiții experimentale. În plus, bacilii se pare că nu se multiplică în sol (Stamatin și col., 1956).

Köbe (1943) explică discordanțele dintre cercetările experimentale și observațiile asupra infecției naturale, prin intervenția unui virus filtrant. Infecția rujetică la porc ar rezulta, după acest autor, din asocierea unui virus filtrabil cu germenul respectiv. Autorul își sprijină afirmația în primul rînd, pe constatarea că trituratul organelor provenind de la porci sacrificați din cauza rujetului transmite regulat boala pe cale digestivă, la porci receptivi. În al doilea rînd filtratele acestor triturate, inoculate singure la porci, deci fără bacili, produc o gastroenterită cronică și vindecabilă. Deci, în organele porcilor morți de rujet, există un virus, și anume: virusul gastroenteritei porcilor. Virusul, după autor, alterează mucoasa tubului digestiv, ceea ce permite pătrunderea bacilului în organism. Bacilul, care se găsește constant pe traiectul gastrointestinal, nu așteaptă, pentru a produce infecția, decît intervenția acestui virus. Ipoteza a primit din partea lui Köbe și o altă verificare experimentală; asociind virusul gastroenteritei porcine cu bacilul rujetului de cultură, autorul a reprodus regulat infecția rujetică tipică. În condiții naturale, epizootiile de rujet după autor, apar, atunci cînd se ivește virusul gastroenteritei.

Fortner și Dinter (1944), reluînd experiențele lui Köbe, nu pot să le confirme și ei ajung la concluzia, socotită clasică, după care bacilul rujetului este singur răspunzător de infecția rujetică.

Specii receptive. *Porcul*, dintre animalele domestice, prezintă o receptivitate deosebită față de bacilul rujetului. La această specie, infecția are un caracter grav, cu un procent ridicat de morbiditate și mortalitate. În cadrul speciei porc se constată unele diferențe de receptivitate, legate mai cu seamă de rasă și vîrstă. Astfel, rasele de mare producție sînt mai receptive ca rasele primitive. În ceea ce priveşte vîrsta, se constată că porcii în vîrstă de 3—12 luni sînt mai sensibili ca purceii tineri şi porcii trecuţi de 1 an. Purceii de lapte nu se infectează decît excepţional. Cazuri la asemenea animale au fost totuşi semnalate de Creangă şi Ciuceanu (1949), Băieş şi colaboratorii (1956).

Iepurele, porumbelul, deşi sînt sensibili la infecţia experimentală, se infectează foarte rar spontan. Tineretul ovin este sensibil, şi în unele ţări s-au găsit deseori infecţii la miei. În Australia, de exemplu, infecţia rujetică la ovine era singura cunoscută pînă în 1938; ea se manifestă, fie prin localizări articulare — poliartrite — fie prin tulburări digestive — enterite hemoragice. Infecţii cu totul sporadice s-au întîlnit şi la alte specii. Astfel, Derlogea şi Tacu au observat infecţii rujetice septicemice şi mortale la două căprioare. Jarmai (1919) a izolat bacilul rujetului de la diverse specii de păsări — găina de apă *(Gallinula chloropus),* canar, mierlă etc., — de la grădina zoologică din Budapesta. Irena Maternowska (1934) şi Vianello (1938) au descris epizootii de rujet în crescătoriile de fazani. În America, s-au semnalat numeroase epizootii de rujet la curcani, curci sau pui de curcă, cu o mortalitate relativ ridicată: 15—20%. Animalele bolnave prezentau cianoza pielii capului, tristeţe etc. Rareori se observau artrite rujetice (Stilles şi col., 1946).

Porcul sălbatic, cangurul se pot infecta spontan cu bacilul rujetului. Sporadic, bacilul rujetului a fost întîlnit în infecţii locale la şobolani. Unii cercetători l-au găsit în leziunile de endocardită de la bovine. Kondo şi Sugimura (1935) l-au izolat de la peşti.

Rujetul, la om, se întîlneşte relativ rar şi este cunoscut sub numele de *erizipeloidul lui Rosenbach,* din cauza asemănării sale cu erizipelul streptococic. Contaminarea se face de regulă, prin manipularea cărnii sau altor produse infectate, putînd fi considerată boală profesională. Se manifestă, de cele mai multe ori, prin eriteme cutanate, tumefacţii, limfagite, adenite etc. (Ciorapciu, 1947), situate mai cu seamă la mînă. Generalizarea bolii este rară şi poate îmbrăca un aspect scarlatiniform, cu localizări articulare. Tulburări intestinale pot surveni la om, în urma consumului cărnii infectate de porc sau de pasăre.

Evoluţia infecţiei naturale la porc. *Forma acută septicemică.* Primele simptome apar după o perioadă de incubaţie de 2—4 zile. Ele constau din febră (41—42°C sau mai mult) şi stare de torpoare; pe pielea de pe urechi, din jurul gîtului mai rar pe pielea din alte regiuni, apar pete roşii, eritematoase, care dispar la presiune. Moartea survine în 24—48 de ore de la apariţia simptomelor. Procentul de mortalitate, este în cazul cînd nu se intervine prin nici o substanţă terapeutică, foarte ridicat, putînd fi chiar de 100%.

Forma cutanată se observă, de regulă, la animalele care prezintă iniţial simptome mai puţin grave şi nu mor în primele zile de boală. În aceste cazuri, pielea din regiunile eritematoase se cianozează şi necrozează. Necrozele cutanate pot avea un aspect romboidal; uneori ele cuprind regiuni întinse. Zonele necrozate se elimină.

Formele cronice sînt de regulă consecutive unor forme septicemice, benigne şi se manifestă clinic prin artrite şi mai ales endocardite.

Endocarditele rujetice sînt uneori compatibile cu viața, alteori ele pot produce moartea subită a animalului sau duce la tulburări circulatorii, ce se manifestă, în special, prin edeme ale membrelor.

Modificări anatomice. În formele acute, leziunile rujetice sînt de tip septicemic. Pe piele, se pot observa zone eritematoase. Vasele din țesutul conjunctiv subcutan sînt injectate. Organele interne sînt congestionate. Cordul prezintă peteșii subseroase. Pulmonul este congestionat. Splina este mărită în volum, turgescentă însă fără hematoame. Ganglionii limfatici sînt congestionați și măriți în volum. Mucoasa stomacală și intestinală congestionată.

Diagnosticul în timpul vieții. Examenul clinic atent, asociat cu datele epizootologice permit diagnosticul infecției rujetice. Rujetul se diferențiază de pesta porcină prin evoluția sa rapidă, prin reacția termică mult mai puternică ca în pestă, prin dispariția totală a poftei de mîncare. etc. Examenul cadavrului permite, la fel, distincția între pestă și rujet. Formele acute de pasteureloză se aseamănă, din unele puncte de vedere, cu rujetul acut (evoluție rapidă, temperatură ridicată) ; se disting în general de cele din urmă prin absența petelor roșii de pe piele (în pasteureloză frecvent sînt pete cianotice), prin condițiile de apariție a bolii etc. Pentru diagnosticul animalelor bolnave sau trecute prin boală, Petrov (1950) recomandă metoda alergică. Antigenul, culturii de rujet omorîte, se inoculează intradermic la ureche. Reacția inflamatorie locală poate fi urmată de necroză, în cazurile pozitive. Porcii sub seroprofilaxie sau vaccinație nu dau reacții pozitive.

De asemenea, în același scop se poate folosi și seroaglutinarea rapidă sau lentă, deoarece serul porcilor care au trecut prin boală și au forme cronice de rujet aglutinează germenii la titru de cel puțin 1/200. Titruri mai mici ca 1/200 se pot găsi și la animale normale.

Diagnosticul după moarte. Examenul microscopic al sîngelui și al organelor animalelor sacrificate în ultima fază a bolii sau moarte de rujet este de regulă pozitiv. Bacilii se conservă mult timp în organele putrefiate, așa că, chiar pe un asemenea material, se poate pune diagnosticul.

Bacilii, în septicemiile rujetice, sînt numeroși, și, în parte, incluși în protoplasma leucocitelor ; prezența în organe a unui număr redus de bacili liberi, nefagocitați, constituie de cele mai multe ori o indicație că animalul nu a murit din cauza rujetului ; se admite, în acest caz, că moartea nu a fost provocată de bacilul rujetului și că germenii care se găsesc în organe au trecut în cursul fazei agonice din intestin în circulația generală, unde s-au înmulțit după moarte. La animalele moarte cu forme cronice bacilii nu se găsesc decît în leziuni.

În vederea diagnosticului însămînțările din organe trebuie să însoțească regulat examenul microscopic. Cînd organele din care s-a făcut însămînțarea sînt proaspete și provin de la animale moarte de rujet se obțin culturi pure ; din organele putrefiate se obțin culturi mixte, bacilul rujetului nefiind împiedicat să se multiplice, de flora de putrefacție. Izolarea bacilului, din asemenea culturi mixte, se face prin inoculări la animale de experiență — șoareci, porumbei. Mediile solide nu pot fi folosite totdeauna pentru izolare.

Tulpinile izolate din organe se examinează, eventual, și din punct de vedere al puterii lor patogene.

Rujetul la porci poate evolua simultan cu alte infecţii produse de virusuri filtrabile — virusul pestei porcine — sau de bacterii. Riegler a descris, de exemplu, infecţii mixte de rujet şi antrax la porc. În consecinţă, izolarea bacilului rujetului din organ nu exclude o infecţie mixtă.

Reacţiile serologice nu sînt folosite în mod curent, în laboratoare, pentru diagnosticul rujetului la cadavru. Totuşi, în unele condiţii, se poate recurge la ele. Astfel, seroprecipitarea poate confirma sau infirma un diagnostic de rujet, şi în lipsa unui laborator poate da preţioase indicaţii. Antigenul din organe se extrage prin fierbere şi reacţia se execută în mod obişnuit cu un ser de mare valoare precipitantă.

Profilaxie. Rujetul este o infecţie de purtător; apariţia bolii este legată, în primul rînd, de prezenţa germenului în organismul animal.

Neputînd acţiona asupra germenilor purtaţi, deci neputînd distruge izvorul de infecţie, trebuie să recurgem, pentru a păstra sănătatea animalelor, la alte mijloace, şi, în primul rînd, la imunizarea lor. Profilaxia se sprijină, în consecinţă şi în special, pe vaccinarea animalelor receptive.

Vaccinurile pasteuriene. Primele vaccinuri antirujetice folosite erau constituite din tulpini trecute prin iepure şi porumbel (Pasteur şi Thuillier, 1883). Varianta atenuată prin treceri pe iepuri era folosită ca vaccin nr. 1, iar cea exaltată în virulenţă prin treceri pe porumbel, ca vaccin nr. 2. Doza inoculată, din fiecare vaccin, era de 0,25—0,5 ml; cele două vaccinuri se inoculau la 10—15 zile interval. Imunitatea conferită satisfăcea, în general, necesităţile practicii, însă tulpinile puteau provoca accidente de vaccinaţie, 0,15% după unele statistici. S-au făcut numeroase încercări pentru a remedia acest neajuns. Konev (1908) reduce, în acest scop, virulenţa tulpinilor; tulpina folosită de acest cercetător, pentru a prepara vaccinul nr. 1, era apatogenă pentru porumbel, chiar pentru cei tineri, omora însă şoarecele, în 7—9 zile, în doză de 0,1 ml şi provenea dintr-o tulpină virulentă, care suferise şapte pasagii prin organismul iepurelui. Tulpina din care se prepara al doilea vaccin provenea din aceeaşi tulpină, însă numai după patru treceri pe iepure şi omora şoarecele în 4—6 zile, iar porumbeii tineri în 5—8 zile. Aceste tulpini au fost obţinute de Konev în 1899 şi începînd cu anul 1900 ele au fost folosite masiv pe teren. Tulpina de vaccin rujet II se mai foloseşte încă pentru prepararea vaccinului viu în U.R.S.S. (Gluhovţev, 1956).

Serovaccinarea. Vaccinurile de acest tip preparate din tulpini atenuate prin treceri pe iepure au fost însă mai tîrziu aproape integral înlocuite prin alte metode de vaccinare, şi, în primul rînd, de serovaccinare, iar apoi prin alte procedee. Lorenz (1896) introduce metoda serovaccinării, care constă din inocularea, la fiecare animal mai mare de 3 luni, a unei doze de 0,5 ml de cultură de bacili rujetici virulenţi şi 5 ml de ser antirujetic. Raportul între cultură şi ser, în metoda Lorenz, este de 1/10. Shuman şi Earl (1954) afirmă că se obţin mai bune rezultate folosind cultura şi serul în proporţie de 1/6. Leclainche foloseşte, pentru imunizarea porcilor, ser imun nefenicat, pe care îl amestecă însă în proporţie de 9/1 cu cultură; fiecare porc, în vederea imunizării era injectat cu cîte 5 ml de amestec pentru 50 kg de greutate vie. (Un porc de 50 kg este inoculat cu 5 ml, unul de 100 cu 10 ml, etc.). Serovaccinarea este urmată în procedeul Lorenz, ca și în procedeul Leclainche, de inocularea unei culturi de bacili rujetici neamestecată cu ser imun ; această inoculare este făcută la 10—15 zile după prima și este, de regulă, perfect suportată de animal ; gradul de imunitate se accentuează prin a doua inoculare, iar durata imunității se prelungește pînă la 1 an. Serovaccinarea simplă, conferă o rezistență care durează 6 luni.

Serovaccinările antirujetice au fost introduse în Romînia de Riegler, după ce la Congresul Internațional de Medicină Veterinară de la Baden, Leclainche dă publicității metoda de preparare a serului antirujetic. Serul a fost preparat de Riegler întîi pe un cal și un măgar apoi pe un număr mai mare de cai. Serovaccinările, cu serul preparat de Riegler, au început a fi aplicate pe teren încă din anii 1901—1902 (Motaș, Riegler, Ciucă, 1907). Cantitățile de ser și vaccin preparate la Facultatea de medicină veterinară sau la Institutul „Pasteur", în intervalul 1902—1915. sînt cele din tabelul 37.

Tabelul 37

Anul	Cantitatea de ser ml	Cantitatea de vaccin ml
1902	1 000	2 060
1903	1 480	5 077
1904	5 060	5 186
1905	6 870	6 980
1906	11 547	11 293
1907	29 759	30 936
1908	33 679	33 139
1909	103 075	102 057
1909—1910	140 391	132 152
1910—1911	60 948	59 207
1911—1912	153 826	140 810
1912—1913	45 732	45 973
1913—1914	35 008	34 186
1914—1915	25 012	22 081

Accidentele care pot urma serovaccinării sînt foarte rare. Ele pot fi datorite fie folosirii, ca vaccin, a unor tulpini prea virulente, fie sensibilității animalelor față de serul întrebuințat. Accidentele datorite unei prea mari virulenți a vaccinului pot fi remediate prin folosirea unei tulpini atenuate. Astfel, la Institutul „Pasteur" din București se folosește de mulți ani o tulpină apatogenă pentru șoarecii normali, care omoară vara porumbelul în doză de 0,01—0,001 ml de cultură de 24 de ore în bulion. Rezultatele obținute cu această tulpină sînt foarte bune : ea nu a produs niciodată accidente de vaccinare, iar rezistența conferită este satisfăcătoare.

Accidentele serice se pot produce la animalele care au mai fost tratate cu ser heterolog, avînd aceeași origine ca serul antirujetic folosit. Aceste accidente apar 10—15 minute după injecția serului, sînt de tip anafilactic și se manifestă fie printr-o urticarie trecătoare, fie printr-o tulburare a stării generale, ca dispnee (86 pe minut), accelerarea pulsului (pînă la 180 pe minut), febră de la 41—42°C, vomismente, diaree, edem al mucoaselor, înroșirea pielii etc. Tulburările acestea pot fi evitate, după Kazakov, prin desensibilizare, și anume injectînd la porcii sensibilizați întîi 1 ml de ser, iar după 30 de minute restul de ser.

Vaccinurile vii și virulente prezintă dezavantajele obișnuite și cunoscute ; ele dau naștere la accidente și pot întreține și răspîndi infecția. Pentru aceste motive se încearcă, în toate cazurile, înlocuirea pe cît este posibil a vaccinurilor virulente și vii prin vaccinuri moarte sau vaccinuri avirulente; asemenea încercări s-au făcut și în cazul rujetului.

Vaccinurile moarte au fost studiate, din punct de vedere al puterii lor imunizante, de numeroși cercetători, dar rezultatele obținute au fost inițial puțin satisfăcătoare. Grebenicov (1926), sub conducerea lui Riegler, nu a reușit, de exemplu, prin culturi omorîte cu formol 1/2 000, să vaccineze șoarecele și porumbelul; iepurii puteau fi însă vaccinați cu asemenea vaccinuri, mai ales dacă ele erau folosite scurt timp (6 ore) după prepararea lor; prin învechire pierdeau orice putere vaccinantă. Fuimura și Kosta (1924) au folosit, cu rezultate satisfăcătoare, un vaccin constituit dintr-o cultură omorîtă prin soluția Lügol (iodovaccinul). Muromțev și colaboratorii au expus, la Congresul medicilor veterinari sovietici din 1937, tehnica preparării unui vaccin rujetic mort, care a și fost folosit pe scară largă în practică. Bacilii se cultivă, în scopul obținerii vaccinului, într-un mediu preparat în felul următor: carnea de bou sau de cal se amestecă cu apă în proporție de 1/2; amestecul, după o macerație de 12 ore, se fierbe 20 de minute și apoi se filtează; pentru fiecare litru de filtrat se adaugă 300 g de ficat tocat de bou; se fierbe din nou 30 de minute, se filtrează, se adaugă apă distilată pînă la completarea volumului inițial și apoi peptonă 1%, acid fosforos 0,5% și agar topit 0,26%; pH-ul se ajustează la 7,8—8,0; se fierbe 20 de minute, se filtrează și se sterilizează 20 de minute la 112^{0}C. Mediul gata preparat are un pH = 7,3—7,5 și culoarea galbenă ca paiul; se utilizează cel mai tîrziu 5 zile după preparare. Însămînțarea se face cu sînge din cordul unui porumbel infectat experimental; se însămînțează mai întîi un volum mic de lichid și apoi, de aici, după o incubație de 24 de ore, în mai multe baloane; fiecare balon are 600 ml de mediu și este însămînțat cu 10 ml de cultură. Incubația durează 6 zile. Cultura se formolează apoi 0,25—0,30% și, după 48 de ore la 37^{0}C, vaccinul poate fi întrebuințat. În doză de 5 ml el vaccinează porumbelul, față de o infecție care omoară porumbelul normal în 50—75 de ore. Pentru vaccinarea unui porc sînt necesare 5—15 ml de vaccin. Mara (1942) la noi în țară, a preparat acest vaccin dintr-o tulpină indigenă și a constatat că el conferă porumbelului o imunitate mai slabă ca serovaccinarea.

Watts (1940) a folosit, în cursul unor cercetări experimentale, un antigen formolat, care însă nu imuniza porcul nici față de o singură doză minimă mortală de cultură virulentă. De asemenea cultura formulată s-a arătat total inactivă în cercetările făcute de Stamatin și Brașoveanu (1948).

Vaccinurile adsorbite și inactivate. Traub (1947—1949) în Germania, Manninger (1949) în R. P. Ungară, Gluhovțev (1951) în Uniunea Sovietică și alții au obținut bune rezultate cu un vaccin formolat și amestecat cu hidroxid de aluminiu. Valoarea imunizantă a acestui vaccin este însemnată. Gluhovțev (1956), de exemplu, relatează că din 585 de porumbei, injectați intramuscular cu acest vaccin, și controlați 15—17 zile după inocularea vaccinantă, cu o tulpină virulentă, au rezistat 487 (deci 83,2%), în timp ce toți porumbeii martori (87) au murit în 60—82 de ore. Aplicat pe teren, vaccinul a dat de asemenea rezultate bune. Intradevăr, printre 1 519 porci, vaccinaţi în trei reprize, cu cîte 3 ml de fiecare repriză, nu a apărut nici un caz de rujet, timp de 6 luni. Pînă în 1953 în U.R.S.S. se imunizase cu acest vaccin 1 249 027 de porci (Gluhovţev, 1953). Şatalov şi colaboratorii (1952), Nedaskovski (1953) şi Paşov (1953) au obţinut la fel rezultate satisfăcătoare cu vaccinul adsorbit pe hidroxidul de aluminiu. Pare stabilit că vaccinurile adsorbite şi inactivate dau rezultate bune cînd sînt preparate din tulpini cu bune însuşiri antigenice. Asemenea tulpini, după cercetările făcute de Wynohradnyk şi colaboratorii săi (1953 şi 1955), se pot găsi în grupa serologică A, cît şi în grupa B sau chiar printre tulpinile care nu aparţin nici uneia din cele două grupe. Gorlov (1953) afirmă că numai tulpinile în faza S pot fi folosite la prepararea vaccinurilor inactivate şi că în general, nu există relaţii directe între capacitatea vaccinantă a unei tulpini şi virulenţa sa. Se pare chiar că tulpinile foarte virulente sînt slab imunizante. În ceea ce priveşte formele R, ele sînt total lipsite de antigenitate. Inoculate în repetate rînduri, la iepure, formele R nu produc anticorpi protectori, în timp ce formele S dau un ser de o înaltă valoare protectoare.

Vaccinuri preparate din germeni vii şi atenuaţi. Paralel cu serovaccinarea şi vaccinurile inactivate prin antiseptice s-au folosit experimental şi în practică vaccinuri vii, preparate din tulpini atenuate. Atenuarea bacililor rujetici se poate obţine prin cultivarea în medii cu antiseptice (tripaflavină, Kondo şi Sugimura, 1932, gonocrină, Vallée, 1954, albastrul de metilen, Günther, 1932 (vezi Gledhill, 1949), prin menţinerea prelungită la termostat (Staub, 1940), prin cultivarea în medii acide (Strickdorn 1945), prin conservarea prelungită în laborator pe medii obişnuite (Stamatin şi Braşoveanu, 1948).

Valoarea imunizantă a vaccinurilor vii, preparate din tulpini atenuate, a fost cercetată de diverşi cercetători. Astfel Staub (1940) obţine rezultate satisfăcătoare cu o tulpină atenuată, cultivată în bulion gelozat. Mai tîrziu, Stamatin şi Braşoveanu (1948) au stabilit valoarea imunizantă pentru porumbel a unei tulpini de bacili rujetici foarte atenuată. Ei constată că această tulpină, în doză de 1 ml de cultură de 24 de ore în bulion, nu omoară porumbeii, dar îi imunizează în proporţie de 43%. Aceeaşi tulpină, în aceeaşi doză, imunizează însă porumbeii într-o proporţie de 84,5% dacă este cultivată în bulion gelozat 0,1%. Geloza accentuează deci, într-o mare măsură, aşa cum de altfel a observat pentru prima oară Staub, valoarea imunizantă a bacililor atenuaţi. Tulpina atenuată folosită în România şi păstrată la Institutul „Pasteur“ sub indicativul de VR_2 a fost izolată în 1931 dintr-o infecţie spontană de la porc. Ea a fost folosită întîi şi timp îndelungat împreună cu alte tulpini pentru prepararea culturii inoculate, împreună cu serul în vederea imunizării porcilor. Pînă în 1936, cultura pentru serovaccinare, ca şi pentru întărirea imunităţii era preparată din mai multe tulpini. În 1936, Stamatin, sprijinindu-se pe datele din literatură şi pe observaţiile proprii şi din care reieşea că nu există diferenţe de ordin imunogenic între diversele tulpini de bacili ai rujetului, a renunţat la prepararea unei culturi polivalente, care prezintă inconveniente tehnice, şi a trecut la un vaccin monovalent, alegînd tulpina VR_2 (vaccin rujet nr. 2). Tulpina a fost numită VR_2 pentru că se folosea inițial pentru a doua inoculare după serovaccinare, în vederea întăririi imunității. Tulpina VR$_2$, în vederea conservării virulenței, era trecută o dată pe an pe porumbel. După mai multe asemenea pasagii făcute în intervalul 1939—1948 s-a putut constata că tulpina, deși păstra un însemnat grad de virulență pentru porumbei (d.l.m. medie era de 10^{-3} ml dintr-o cultură în bulion de 24 de ore), era apatogenă pentru șoarece. Această proprietate era foarte importantă, ea permițînd identificarea bacililor vaccinali și distincția lor de bacilii întîlniți în formele spontane de rujet. Era o tulpină marcată. Într-adevăr, prin inocularea la șoarece a tulpinilor izolate din presupusele accidente de vaccinare, se putea preciza dacă tulpina vaccinală este sau nu este o cauza accidentului. Amintim că această tulpină nu a fost niciodată izolată din asemenea cazuri.

În 1956, după cercetările făcute de Bușniță și Isopescu, tulpina nu este patogenă pentru șoarece, iepure și porc, dar omoară porumbelul în doză de 0,5 ml cultură de 24 ore în bulion. Ea aparține tipului serologic N. Are o valoare imunizantă însemnată pentru iepure și șoarece, întru totul comparabilă cu aceea conferită de vaccinurile adsorbite. În doză de 0,5 ml pentru porcii de 40 kg sau mai puțin și 1 ml pentru porcii mai grei de 40 kg ea conferă o imunitate satisfăcătoare, așa cum rezultă din datele obținute în urma vaccinării cîtorva milioane de animale, atît în Romînia, cît și în Bulgaria (Iliev și col. 1955). Vaccinul conservă cel puțin 2 luni aceeași valoare imunizantă.

Valoarea diverselor metode de vaccinare. În concluzie, în imunizarea porcilor contra rujetului se folosesc în prezent două feluri de vaccinuri și anume: 1) vaccinul adsorbit pe hidroxid de aluminiu și inactivat prin formol, preparat cu tulpini de mare valoare antigenică (vaccin tip Traub) și 2) vaccinuri vii, preparate din tulpini atenuate (vaccinuri de tip pasteurian). Vaccinurile adsorbite dau probabil o imunitate mai redusă ca cele vii și care se instalează mai încet — 3 săptămîni după Kobusiewicz 1954 — dar au avantajul că ele își conservă aceeași valoare imunizantă un timp îndelungat (4—8 luni, Travinski, 1949). Vaccinurile vii dau desigur o imunitate solidă, care se instalează într-un timp relativ scurt (14 zile după Staub). În plus, din punct de vedere industrial, vaccinurile vii prezintă avantajul că se folosesc în doze mici, ceea ce reduce prețul de cost al unei imunizări. Dezavantajul vaccinurilor vii îl constituie reducerea relativ rapidă a valorii lor imunizante. Astfel, după Travinski (1949), vaccinul preparat de 2 zile imunizează șoarecii în proporție de 79,41% cel de 10 zile în proporție de 45,71%, iar cel de 20—30 de zile, în proporție de 26,19%. Bușniță și Isopescu nu au observat o degradare așa de importantă a vaccinului pe care l-au studiat. Degradarea mai rapidă sau mai lentă a valorii imunizante a acestor vaccinuri este în funcție de mediul de cultură și de condițiile de conservare.

Vaccinurile vii, preparate din tulpini atenuate, se folosesc în R.P.R. și în R.P. Bulgaria. În R.P. Polonă se folosește vaccinul adsorbit Traub, dar și un vaccin preparat cu tulpina atenuată Staub și care dă rezultate bune. Chwaliborg și colaboratorii (1954) afirmă că prin cultivarea bacilului Staub într-un mediu cu 30% ser de cal se mărește în mod apreciabil valoarea imunizantă a produsului.

În U.R.S.S. se folosesc atît vaccinurile vii, preparate cu tulpinile atenuate de Konev sau de alți cercetători, cum sînt Kotov, Tukanov, Merkulov-Epstein, Popov (vezi Rostovțeva, 1955), cît și vaccinurile semilichide, inactivate prin formol (tip Muromțev). De asemenea, pe o scară largă se folosește și vaccinul Gluhovțev, adsorbit pe hidroxid de aluminiu.

Metoda serovaccinării nu a fost total abandonată. În S.U.A., după Schumann și Schoening, ea este folosită încă pe o scară destul de largă; de asemenea, în unele țări europene (Ungaria, Germania, Romînia) folosirea ei este recomandată în efective infectate.

Determinarea valorii imunizante a unui vaccin

Pentru determinarea valorii imunizante a unei tulpini atenuate sau a unui vaccin inactivat și adsorbit se folosesc, cu bune rezultate, șoarecii. Aceștia, chiar printr-o singură inoculare, devin rezistenți la doze însemnate (1 000 d.l.m.) de cultură virulentă. Antigenul imunizant, în vederea determinării valorii sale comparative, trebuie să fie inoculat în diverse diluții. Astfel, cultura tulpinii VR_2 diluată 1/128 și inoculată în doză de 0,2, imunizează șoarecii într-un procent de aproximativ 100%, dar alte tulpini de același tip, imunizează șoarecii în proporție de 100% numai cu culturi integrale, dar nu-i mai imunizează, în aceeași proporție, cînd prin diluție se reduce numărul germenilor vaccinali (Bușniță și Isopescu, 1956). Din aceste considerente, pentru a avea o imagine mai exactă a valorii imunizante a diverselor tulpini este necesar ca produsul vaccinal să fie diluat.

Porcul, în general, nu poate fi folosit pentru determinarea valorii imunizante a unui vaccin din cauză că, în primul rînd, reproducerea infecției, la această specie, este foarte capricioasă și, în al doilea rînd, pentru că chiar dacă s-ar putea stabili condițiile în care el poate fi constant infectat (inoculare prin scarificare sau inoculare intracerebrală), metoda este prea costisitoare.

Tratamentul. Rujetul se tratează, atît la om, cît și la animale, prin ser imun sau antibiotice; acestea din urmă nu au reușit încă să înlocuiască total serul imun.

Serul antirujetic, preparat pe iepuri (Lorenz, 1892), cai (Leclainche, 1899) sau pe porci, are o valoare antiinfecțioasă însemnată. Într-adevăr, în doze care variază între 1 și 1,5 ml pe 1 kg de greutate vie, el vindecă chiar formele grave de rujet la porci. După unii practicieni, doza poate fi redusă la jumătate sau chiar la 1/3 (0,5 ml pe kg), dacă serul se amestecă, înainte de injecție, cu 1—2 ml de adrenalină, soluție 1/1 000. Serul, în scop terapeutic, se injectează subcutan, intraperitoneal sau intravenos.

Valoarea preventivă a serului antirujetic este tot așa de importantă ca și cea curativă; astfel, în doză de 10 ml el conferă porcului o imunitate solidă, care durează 2—3 săptămîni.

Serurile imune obținute de la diverse specii animale nu sînt egal de active. Astfel, serul de cal este în general mai activ și dă rezultate mai bune în tratamentul rujetului decît serul de bou. După Müller (1955), serul de porc ar fi superior celui preparat pe cal. Autorul constată, în acest sens că serul preparat de porc, în asociaţie cu penicilina, dă un procent de vindecări de 90%, serul de porc singur vindecă 40% din porcii bolnavi, iar serul de cal numai 27%.

Prepararea şi titrarea serului antirujetic. Serul antirujetic se prepară în mod obişnuit pe cai, care sînt inoculaţi în acest scop pe cale intravenoasă, în repetate rînduri, cu culturi virulente. Animalele suportă greu aceste inoculări; bacilii se localizează frecvent pe endocard sau în articulaţii, producînd endocardite sau artrite rujetice, care slăbesc şi omoară animalele. Pentru a se evita asemenea accidente, s-a încercat înlocuirea bacililor virulenţi cu germeni atenuaţi, sau inocularea antigenului pe cale subcutană ori substituirea culturii în bulion, cu suspensii în apă fiziologică. Aceste încercări nu au dat totdeauna rezultatele aşteptate şi se pare că un bun ser antirujetic nu se poate obţine pe cal decît prin inocularea culturilor în bulion, pe cale intravenoasă. De asemenea, s-a încercat înlocuirea calului cu boul. Asemenea încercări şi studii comparative privind serul de cal şi bou au fost făcute de Riegler şi Stamo (1935) (lucrare inedită). Autorii au inoculat, paralel la cai şi boi, antigenul pe cale intravenoasă şi intratraheală. Serurile obţinute au fost titrate de Stoenescu (1937), care constată că pe cal se obţine un ser cu titru satisfăcător, indiferent dacă antigenul este inoculat intravenos sau intratraheal. Serul obţinut pe bovine, prin inocularea intravenoasă a antigenului, este tot aşa de activ ca şi cel preparat pe cal; serul provenit de la bovinele inoculate pe cale intratraheală este de patru ori mai puţin activ ca cel care provine de la animalele (cai sau boi) inoculate pe cale intravenoasă.

Problema preparării serului antirujetic pe boi a fost reluată, o dată cu pătrunderea anemiei infecţioase la cabaline, boală care îngreuiează foarte mult, şi din multe motive, exploatarea cailor pentru ser. Tomescu şi colaboratorii (1953), în cadrul Institutului „Pasteur" au injectat culturile, în vederea preparării serului antirujetic, după protocolul dat în tabelul 38.

Tabelul 38

Protocol de hiperimunizare a bovinelor cu culturi de bacili ai rujetului în bulion peptonat 0,1%

Calea de inoculare	Numărul de ordine al injecţiei şi doza										
	I	II	III	IV	V	VI	VII-XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
Subcutan	50	100	150	200	300	350	400	~	~	~	~
Intravenos	~	~	~	~	~	~	~	50	100	150	200

Însuşirile tulpinilor folosite pentru prepararea serului au un rol important. Se admite că unele tulpini, în special, cele care dau o hemaglutinare pozitivă, sînt mai antigenice ca cele cu hemaglutinare negativă. La fel, tulpinile gelatinolitice sînt mai active ca cele negelatinolitice. Gelenczei şi Rappay (1953) găsesc că tulpinile de tip B dau pe cal un ser mai activ decît cele de tip A; în plus, ele sînt mai bine suportate de animale, deoarece le alergizează într-o mică măsură. Hegyeli și Surjan (1956) recomandă folosirea tulpinilor de tip B puțin patogene. Serul imun, preparat cu tulpini B, neutralizează în condiții egale, atît tulpinile de tip B, cît și pe cele de tip A.

Animalul, folosit ca donator de ser, adică specia, vîrsta, starea sa generală de întreținere etc., influențează într-o mare măsură titrul serului imun. Caii sînt în orice caz superiori din acest punct de vedere boilor, și ei dau totdeauna un ser mai activ. Porcii, după unele cercetări, ar da de asemenea un ser tot așa de bun ca și caii (Hegyeli și Surjan, 1956). În general, și indiferent de specie, se obține un ser mai bun de la animalele ținute în condiții normale de igienă și rațional alimentate decît de la cele care stau în stabulație perpetuă, în grajduri neaerisite și care primesc rații necomplete. Factorii individuali intervin în procesul de producție a anticorpilor și existența lor explică de ce animalele ținute în condiții egale dau seruri cu titruri deosebite. Ritmul inoculărilor, adică intervalul care separă o inoculare de alta, influențează la fel titrul serului.

Serul antirujetic, este aglutinant, precipitant și antiinfecțios. Valoarea antiinfecțioasă a unui ser nu se poate însă măsura decît in vivo, pe animale de experiență, deoarece nu există totdeauna un raport direct între conținutul serului în anticorpi aglutinanți sau precipitanți și puterea sa protectoare și curativă (Toader, 1941, Creangă, 1949). Pentru titrarea in vivo se pot folosi porumbei sau șoareci.

Titrarea pe porumbei. *Procedeul de titrare prin inocularea în amestec a serului și culturii* (după Leclainche). Se amestecă cantități crescînde (0,25, 0,5 și 1 ml) din serul de titrat cu 1 ml de cultură în bulion de bacilul rujetului și amestecul se inoculează, pe cale intramusculară, la porumbel, cîte una sau două păsări pentru fiecare doză de ser; un bun ser trebuie să protejeze porumbelul în doză de 0,5 ml. Martorii injectați numai cu cultură trebuie să moară în 60—72 de ore. Se consideră că un ser, care în aceste condiții protejează porumbelul în doză de 0,5 ml este un ser de activitate normală; cel care-l protejează în doză de 0,25 ml este de două ori normal etc.

Procedeul de titrare prin inocularea separată a serului și culturii. La patru porumbei se injectează, respectiv, 0,08, 0,16, 0,4 și 0,8 ml de ser; cultura de control se inoculează imediat sau după 1 oră, în doză de 0,5 ml de cultură în bulion de 40—48 de ore. Această doză trebuie să omoare porumbeii martori în 60—70 de ore. Un ser bun protejează porumbelul în doză de 0,4 ml.

Protocoalele sovietice de titrare pe porumbel prevăd să se injecteze, la cinci porumbei, cîte 0,3 ml de ser intramuscular; după 1 oră se inoculează cultura în doză de 0,2 ml, tot intramuscular. Un ser poate fi folosit cînd, în aceste condiții, el protejează cel puțin trei porumbei din cinci, iar martorii mor în 3—4 zile.

Titrarea pe șoareci. Șoarecele, și anume șoarecele gri, a fost introdus ca animal pentru titrarea serului antirujetic de Lorenz. Tehnica inițial folosită de acest autor a fost modificată în decursul timpului. Dăm tehnica cea mai curent folosită în laboratoare. Pentru fiecare ser se folosesc, de regulă, 10 şoareci albi. Paralel cu serul de valoare necunoscută se titrează şi un ser standard, păstrat sub formă uscată. Şoarecii sînt injectaţi întîi cu dozele variate de ser şi peste 1 oră cu aceeaşi doză de cultură. Se folosesc cinci doze diferite de ser şi pentru fiecare doză se repartizează doi şoareci, după cum urmează (după Marx, 1901):

1. doi şoareci cu 0,005 ml (0.5 ml dintr-o diluţie 1/100)
2. doi „ „ 0,008 ml (0,5 ml din amesteul a 1,6 ml ser diluat 1/50 + 0,4 ml apă fiziologică)
3. doi „ „ 0,010 ml (0,5 ml dintr-o diluţie 1/50)
4. doi „ „ 0,15 ml (0,5 ml din amestecul a 0,6 ml ser diluat 1/10 + 1,4 ml apă fiziologică)
5. doi „ „ 0,02 ml (0,5 ml din amestecul a 0,8 ml ser diluat 1/10 + 1,2 apă fiziologică)

1 oră după injectarea serului toţi şoarecii primesc, pe cale intraperitoneală, cîte 0,3 ml dintr-o cultură de 24 de ore în bulion. Virulenţa tulpinii folosite trebuie să fie moderată; ea trebuie să omoare şoarecele pe cale intraperitoneală, în 5—7 zile, cu diluţia de 1/1 000 — 1/30 000 dintr-o cultură de 24 de ore în bulion de 24 de ore. Observaţia animalelor injectate durează 6 zile; martorii mor în 2—3 zile; şoarecii injectaţi cu cultură şi ser standard, în doze mai mici ca 0,01, mor mai tîrziu ca martorii, iar cei care au primit 0,01 ml de ser sau mai mult rezistă. Serul de titrat trebuie să se comporte ca serul standard; dacă el nu protejează şoarecele cel puţin cu doza de 0,01 ml şi dacă la repetarea operaţiei se obţin aceleaşi rezultate, înseamnă că serul este inactiv şi nu poate fi folosit pentru prevenirea sau tratamentul infecţiei rujetice.

Procedeul sovietic simplificat folosit pentru titrarea serului de la fiecare animal donator de ser. La şase şoareci, se injectează intraperitoneal cîte 0,5 ml de ser, în volumul de 0,5 ml; după 1 oră, fiecare şoarece este inoculat cu 0,002 ml de cultură virulentă, în volum de 0,2 ml. Un animal cal, bou, porc poate fi exploatat, în continuare, la prepararea serului antirujetic cînd serul său protejează cel puţin patru şoareci din şase. Observaţia şoarecilor durează 10 zile.

Procedeul sovietic folosit pentru titrarea serului înainte de livrare.

trei şoareci se injectează cu 0,01 ml ser
trei „ „ „ „ 0,02 ml „
trei „ „ „ „ 0,03 ml „

După 1 oră, toţi şoarecii, plus trei martori, sînt injectaţi subcutan cu 0,002 ml de cultură, în volum de 0,2 ml. Un ser poate fi folosit, cînd protejează toţi şoarecii injectaţi, cu 0,03 ml şi cel puţin doi din lotul injectat cu 0,02 ml. Martorii trebuie să moară în 3—4 zile.

Titrarea aglutininelor. Serul antirujetic este aglutinant; determinarea titrului aglutinant al unui ser se face în felul următor: într-o serie de tuburi se distribuie cîte 9 ml de bulion; în primul tub se pune 1 ml din serul de titrat; tubul se agită bine şi din el — serul fiind diluat 1/10 — se ia 1 ml şi se pune în al doilea tub, unde se obţine astfel o diluție 1/100; procedînd astfel, se diluează serul pînă la 1/10 000 000. Toate tuburile cu bulion și ser, precum și un tub de bulion fără ser se însămînțează cu cîte 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore. Citirea se face după 24—48 de ore, la termostat. Unele seruri pot aglutina germenii chiar la o diluție 1/10 000 000. Reacția este specifică; serurile normale nu produc un fenomen asemănător, iar serurile antirujetice nu aglutinează alte specii bacteriene. Pentru unele seruri, Pavicic, Bobalic, Toader constată o relație între puterea aglutinantă a unui ser și valoarea sa antiinfecțioasă, dar această relație nu este obligatorie, în sensul că un ser cu un titru aglutinant ridicat nu are totdeauna și o mare valoare antiinfecțioasă.

Titrarea precipitinelor. Serurile imune sînt și precipitante. Toader (1941), Creangă (1949), cercetînd comparativ valoarea precipitantă și antiinfecțioasă a unui ser ajung la concluzia că de asemenea nu există relații directe între cele două însușiri ale unui ser imun — un ser bun protector poate fi slab precipitant și invers. Toader, pentru a determina conținutul în precipitine al unui ser, amestecă în tuburi de centrifugă, efilate și gradate, un volum de ser cu un volum egal de extract bacterian; după 1 oră de contact la temperatura camerei, tuburile sînt centrifugate, determinîndu-se astfel volumul precipitatului produs.

Conservarea serului. *Factorii care pot influența conținutul său în anticorpi.* Serul antirujetic conservă timp îndelungat (cel puțin 3 ani) la rece și la întuneric conținutul său inițial în principii antiinfecțioși. Înghețat și dezghețat de șapte ori el nu-și pierde sensibil valoarea sa protectoare pentru animalele de experiență (Isopescu, 1949). Încălzit la temperaturi cuprinse între 56 și 60°C, el își reduce însă sensibil conținutul în anticorpi (Tacu, 1951—1952). De asemenea, serul, antirujetic preparat pe porc și mai ales pe cal își reduce sensibil valoarea sa protectoare (4—30%) prin iradiere cu raze ultraviolete (Kucsera, 1956).

Mecanismul acțiunii serului imun. Modul de acțiune a serului antirujetic este încă nelămurit. Serul nu este bactericid in vitro, ceea ce reiese din constatarea că în prezența sa bacilii se dezvoltă. Se afirmă chiar că serul imun este mai favorabil multiplicării germenilor ca serul normal. Serul imun, obținut de la caii cu leziuni cronice, poate conține bacilii rujetului; prin acest contact, bacilii nu au pierdut puterea lor patogenă. De asemenea, serul imun care conține bacilii nu-și reduce valoarea sa antiinfecțioasă. Într-adevăr, un ser în care s-au cultivat bacilii in vitro, poate fi foarte activ in vivo; germenii nu fixează deci, in vitro, anticorpii protectori pe care îi conține serul. Acțiunea serului, in vivo, ar consta, după majoritatea cercetătorilor, dintr-o activare a elementelor fagocitare. Experimental, s-a observat că leucocitele animalelor imune sînt mult mai active față de bacilul rujetului ca leucocitele animalelor normale. Activitatea ridicată a leucocitelor animalelor imune ar fi datorită neutralizării de către anticorpii din ser a agresinelor bacteriene, în special a principiilor antileucocitari și antifagocitari.

Tratamentul cu antibiotice. Sulfamidele sînt inactive în infecția rujetică; în schimb penicilina și streptomicina exercită asupra bacilului rujetului o acțiune antibiotică netă atît in vivo cît și in vitro (Popa, 1948); ele par a fi chiar mai active decît serul imun. În tratamentul rujetului la porc, penicilina se injectează în doze care variază în raport cu gravitatea cazului. Unele cazuri se vindecă administrînd într-o singură injecţie 100 000 U.I. In alte cazuri, injecţiile trebuie repetate — aceeaşi doză de mai multe ori — pînă la completa vindecare. Băieş şi colaboratorii (1956) afirmă că asocierea penicilinei cu serul imun dă cele mai bune rezultate în tratamentul rujetului la porc. Autorii recomandă ca animalului bolnav să i se administreze într-o singură repriză 2 000—4 000 U.I. de penicilină pe kilocorp, precum şi o doză de ser imun, care variază în raport cu greutatea, şi anume: 10—20 ml pentru porcii pînă la 50 kg, 20—30 ml pentru cei cu o greutate între 50 şi 100 kg şi 30—40 ml pentru cei care depăşesc 100 kg. Aplicînd un asemenea tratament se obţine vindecarea tuturor porcilor la care nu s-au produs încă leziuni incompatibile cu viaţa.

Antibioticele şi serul imun s-au folosit şi în tratamentul rujetului la alte specii animale. Astfel, Stilles şi colaboratorii (1946) folosesc aceste produse în terapia rujetului la curcani. Autorii afirmă că la această specie streptomicina dă cele mai bune rezultate, în doză de 140 gama, ea salvînd animalele bolnave în proporţie de 100%, în timp ce penicilina, în doză zilnică de 20 000 U.I. şi aplicată timp de 4 zile, vindecă 90%, iar serul imun numai 50%.

BIBLIOGRAFIE

ARSOV R. — Porcii sănătoşi purtători de bacili rujetici. *Naukii Trudov. Fac. Med. Vet. Sofia*, 1955, 4, p. 185.
BĂIEŞ I. şi col. — Contribuţii la tratamentul rujetului la porc. *Comunicări ştiinţifice, Facultatea de medicină veterinară*, Arad, 1956.
BĂIEŞ I. şi col. — Particularităţi epizootologice şi anatomoclinice în cîteva focare de rujet din zona de vest a ţării. *Comunicări ştiinţifice, Facultatea de medicină veterinară*, Arad, 1956.
BIRO E. — *Allatorv. Közl.*, 1933, 30, p. 7.
BUŞNIŢĂ V. şi ISOPESCU I. — Tulpinile avirulente în vaccinarea antirujetică. Hommage à la mémoire du Prof. Riegler. Buc. 1957.
CERNĂIANU C. şi POPOVICI I. — Izolarea bacilului rujetului de la iepure. *Bull. de Acad. Vét. France*, 1930 şi *Bull. Ass. Gen. a Med. Vet.*, 1930, nr. 7, p. 445.
CERNEA I. şi BUTURĂ I. — Cercetări asupra prezenţei b. rujetului la bovinele sănătoase. *Probleme de epizootologie şi microbiologie*, 1956, 5, p. 29.
CREANGĂ EM. şi CIUCEANU I. — Cazuri de rujet septicemic la purceii sugari. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1949, 60, p. 6.
CSONTOS J. şi HIRT G. — Cercetări experimentale asupra etiologiei gastroenteritei infecţioase a porcilor. *Acta Vet. Hung.*, 1951, 1, p. 205.
CHWALIBORG J. şi TERESZCZUK S. — Producţia vaccinului contra rujetului cu tulpina avirulentă a lui Staub. *Med. Veterin* (Polonia), 1954, 10, p. 194
CIORAPCIU S. — Erisipeloidul. *Spitalul*, 1949, nr. 9—12.
DERLOGEA H. şi TACU D. — Două cazuri de rujet septicemic la căprioare. *Arhiva veterinară*, 1945, 37, p. 61
DIDIE K. — Diferenţierea bacililor rujetici după proprietăţile lor în vitro. *Ergebnisse der exp. vet. Medizin*, 1950, 2, p. 56.

DIDIÉ K. — Acţiunea in vivo a antigenului acidosolubil obţinut din bacilul rujetului. *Zbl. f. Bakt.*, 1952, 58, p. 170.

DINTER Z. — B. rujetului. *Zbl. f. Bakt. O*, 1949, 153, p. 281.

EMMERICH şi MASTBAUM — Cauzele imunităţii. *Archiv. f. Hyg.*, 1891, 12, p. 275.

FORTNER şi DINTER Z. — Este bacilul rujetului agentul rujetului porcului. *Z. f. Infekt. u. Hyg. der Haustiere*, 1944, 60, p. 157.

GELENCZEI E. şi SZENT IVANYI TH. — Asupra capacităţii hemoaglutinante a bacililor rujetici. *Acta Vet. Hung.*, 1951, 1, p. 55.

GELENCZEI E. şi RAPPAY D. — Hiperimunizarea cailor cu tulpini de bacili rujetici de tip A şi B. *Magy Állatorv. Lapja*, 1953, 9, p. 261.

GHENADESCU N. — Încercări de transmisiune a rujetului la cobai. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1942.

GLEDHILL W. A. — Asupra imunizării contra rujetului porcului. *Bull. Off. Int. Epizooties*, 1949, 32, p. 4.

GLUHOVŢEV D. G. — Vaccinul antirujetic cu hidroxid de aluminiu formolat. *Veterinaria*, 1951, nr. 3, p. 47.

GLUHOVŢEV D. G. — Metode de profilaxie activă a rujetului. *Trudî gosudarstvennovo naucino — kontrolnovo instituta veterinarnîh preparatov, Selhozghiz* Moscova, 1953, vol. IV. Tradus în *Analele Romîno-Sovietice, Zootehnie şi medicină veterinară*, 1956, 1, p. 95.

GORLOV V. B. — Studiul proprietăţilor imunogene ale tulpinilor de rujet şi principiile selecţiei lor pentru producţie. *Trudî gos. naucinokontrolnovo Inst. Veter. preparatov, Selhozghiz*, vol. IV, 1953, Tradus în *Analele Romîno-Sovietice Zootehnie şi medicină veterinară*, 1956, 1, 104.

GREZIN V. F. — Penicilinoterapia în rujet. *Veterinaria*, 1953, 7, p. 28.

GREBENICOV T. — Încercări de vaccinaţiune în rujet cu formol-vaccin. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1926.

HEGYELI Z. şi SURJAN J. — Cercetări privind îmbunătăţirea calitativă şi raţionalizarea producţiei de ser antirujetic preparat pe porc. *Acta Vet. Acad. Scient. Hungaricae*, 1956, 6, p. 243.

HESSE F. — Influenţa reacţiei, în special a solului, asupra dezvoltării bacilului rujetului şi a bacilului septicemiei şoarecilor. *A. f. Tierheilkunde*, 1923, p. 168.

HIRT G. — Diagnosticul şi histopatologia gastroenteritei infecţioase a porcului. *Acta Vet. Hung.*, 1951, 1, p. 239.

ILIEV T. şi col. — Epizootologia rujetului în Bulgaria. *Naukiĭ Tr.* 1955, 4, p. 129.

KŐBE K. — Etiologia gastroenteritei infecţioase a porcului şi relaţiile sale cu rujetul. *Zbl. f. Bakt.*, 1943, 194, p. 401.

KOBUSIEWICZ T. — Valoarea practică a vaccinului antirujetic Traub în Polonia. *Med. weteryn,*. 1954, 10, p. 453 şi p. 565

KONDO şi SUGIMURA — Studii experimentale asupra bacilului rujetului porcin găsit la peşti. *Ref. Bull. Inst. Past.*, 1935, p. 1113.

KONEV F. D. — Metode de atenuare şi preparare a vaccinurilor antirujetice şi rezultatele aplicării lor. *Culegere de lucrări a Inst. de Med. Vet.*, Harkov, 1908, 8, nr. 6.

KUCSERA GY. — Acţiunea razelor ultraviolete asupra puterii protectoare a serului antirujetic. *Acta, Vet. Acad. Scient. Hungaricae*, 1956, 6, p. 231.

KUJUMGIEV I. — Rujetul porcului în Bulgaria. *Vet. Sbirka*, 1940, 44, nr. 1.

LECLAINCHE E. — Seroterapia rujetului la porc. *C. R. Soc. Biol.*, 1897, p. 428 și 1899, p. 346.

LÖFFLER F. — Cercetări experimentale asupra rujetului porcului. *Arbeiten aus dem Keiserliche Gesundheitsamte,* 1886, 1, p. 46.

LORENZ — O metodă de prevenire a rujetului. *Zbl. f. Bakt.*, 1893, 13, p. 357; 1894, 15, p. 278; 1896, 20, p. 792.

MACOVESCU TR. — Diagnosticul rujetului prin metoda termoprecipitinelor lui Ascoli, *Arhiva veterinară,* 1913, 10, p. 289.

MALEAVIN A. G., ANANIEV M. I. și KRIVOȘEEVA Z. M. — Cercetarea proprietăților antigenice și imunologice a tulpinilor de Bac. rujetului. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnîh preparatov,* 1952, 3, p. 305.

MANNINGER R. — Gastroenterita infecțioasă a porcului. *Acta Vet. Hung.,* 1948, 1, p. 1.

MANNINGER R. — Asupra unei metode de imunizare activă contra rujetului. *Acta Vet. Hung.*, 1949, 1, p. 5.

MARA V. — Încercări de imunizare a porumbelului cu culturi de rujet moarte. *Teză nr. 904 la Facultatea de medicină veterinară,* București. 1942.

MARMORSTEIN J. — Asupra multiplicării bacteriilor patogene pentru animale în solul steril. *Tierärzt Rundschau,* 1924, p. 143.

MARX D. — *Tierärzt Wschr.*, 1901.

MEYN A. — Formele netede ale bacilului rujetic. *Zbl. f. Bact. O.,* 1931, 122, p. 507.

MOTAȘ C., RIEGLER P. și CIUCĂ A. — Profilaxia bolilor molipsitoare ale animalelor din Romînia. *Arhiva veterinară,* 1907, 4, p. 154.

MÜLLER F. — Cercetări comparative privind tratamentul rujetului. *Monatsh. f. Veterinärmedizin,* 1955, nr. 19/20, p. 489.

MUROMȚEV N. S. — Experimentarea vaccinului formolat semilichid în rujetul porcilor. *Sovetskaia Veterinaria,* 1936, nr. 11.

MUROMȚEV N. S., MATVIJENKO I. N. și SVINȚOV M. P. — Rezultatele întrebuințării generalizate a vaccinurilor omorîte prin formol contra rujetului, în anul 1937. *Ref. Bull. Inst. Past.,* 1940, p. 677.

PĂSCULESCU D. — Observațiuni asupra efectului serovaccinului antirujetic. *Arhiva veterinară,* 1914, 11, p. 328.

PAȘOV V. T. — Experimentarea în producție a vaccinului formolat și adsorbit pe hidroxid de aluminiu contra rujetului la porci. *Veterinaria,* 1953, nr. 2, p. 27.

PASTEUR L. și THUILLIER — Vaccinarea în rujetul porcilor cu virusul atenuat al acestei maladii. *C. R. Acad. Sci.,* 1883, 47, p. 1163.

PAVICIK D. — Aglutinarea bacilului rujetului în statu nascendo și folosirea reacției pentru tipizarea acestui microb. *Veterinarski Arhiv,* 1940, 10, p. 130.

PETROV V. F. — Diagnosticul alergic al rujetului la porc. *Veterinaria,* 1950, nr. 8, p. 21.

ROSTOVȚEVA A. I. — Rezultatele folosirii experimentale pe scară largă în producție a unor noi vaccinuri antirujetice. *Veterinaria,* 1955, nr. 6, p. 32.

SATALOV F. V. și col. — Aprecierea eficacității vaccinurilor contra rujetului porcilor. *Veterinaria,* 1952, nr. 7, p. 32.

SHUMAN R. D. și EARL F. L. — Evaluarea experimentală a vaccinației prin ser și cultură pentru imunizarea antirujetică. *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 1954, 125, p. 306.

SPEARS A. N. — Purtători de bacili ai rujetului. *J. comp. Path.,* 1954, 64/2, p. 1552.

STAMATIN N. și BRAȘOVEANU AL. — Valoarea vaccinală pentru porumbel a diverselor antigene rujetice. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1948, nr. 9—10, p. 534

STAUB A. — O nouă formulă de vaccinare contra rujetului la porc. *Bull. Acad. Vét. France*, 1940, 13, p. 103.

STILLES W. G. — Observaţii asupra rujetului porcilor la curcani. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1946, 109, p. 65.

STOENESCU A. — Stabilirea valorii comparative a serului antirujetic preparat pe cal şi bou prin inoculări intravenoase şi intratraheale. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1937.

SZENT IVANYI M. — Asupra unui mediu special pentru cultivarea bacililor rujetici şi streptococii mamitei vacilor. *Acta Vet. Hung.*, 1951, 1, p. 229.

SZENT IVANYI T. — Tipurile de bacili rujetici şi răspîndirea lor în ţară. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 1952, nr. 3.

TACU D. — Acţiunea căldurii asupra valorii protectoare a serului antirujetic. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*. 1951—1952, 3, p. 113.

TIFFANY L. W. şi WHEATON R. B. — Un mediu propice pentru cultivarea lui E. rhusiopathiae. *J. Bact.*, 1954, 68, p. 258.

TOADER N. — Stabilirea raportului între valoarea protectoare a serului antirujetic şi conţinutul în aglutinine şi precipitine. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1941.

TOLSTEAK E. I. — Transmiterea rujetului la porci prin muşcătura muştei Stomoxys calcitrans. *Veterinaria*, 1956, nr. 6, p. 73.

TOMESCU V., CARP N., JITARU N. şi DOHOTARU V. — Prepararea serului antirujetic pe bovine după metoda sovietică. *Analele Romîno-Sovietice, Zootehnie şi medicină veterinară*, 1954, nr. 2, p. 63.

TRAUB E. — Imunizarea în rujetul porcului prin vaccinuri adsorbite concentrate. *Off. Intern. Epizooties*, 1949, 32, p. 22

TRAVINSKI A. — Imunizarea antirujetică la porc, în special, cu cultura vaccinală Staub. *Bull. off. Int. Epizooties*, 1949, 32, p. 13.

TUSKO V. şi KRAVET P. — Acţiunea penicilinei asupra agentului patogen al rujetului in vitro. *Veterinaria*, 1951, nr. 10, p. 47.

VALÉE M. — *Bull. Acad. Vét. France*, 1948, 21, p. 301.

WATTS P. S. — Studiu asupra bacilului rujetic. *J. Path. and. Bact.*, 1940, 50, p. 355

WYNOHRADNYK VL., TACU D. şi PAPADOPOL M. — Studiul tulpinilor de bacili rujetici izolate din R.P.R. şi tipizarea lor. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1953, 4, p. 117.

WYNOHRADNYK VL., PAPADOPOL M. şi CARJEVSCHI I. — Studiul imunologic al tulpinilor de b. rujetului izolate recent în R.P.R. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1955, 5, p. 50.

Erysipelothrix muriseptica (Flügge) Rosenbach, 1881

Sinonime: *Bacterium murisepticum* Migula, 1895.

Robert Koch, inoculînd la şoareci apa impură, provoacă o septicemie mortală; el izolează din cadavre un bacil subţire, Gram pozitiv cunoscut sub numele de *Bacterium murisepticum* sau *Erysipelothrix muriseptica* şi care s-a arătat morfologic, cultural şi serologic identic cu bacilul rujetului. De obicei, acest germen este mai puţin patogen ca bacilii izolaţi din cazurile de rujet spontan la porc, dar această constatare nu justifică despărţirea celor doi germeni în două specii diferite, patogenitatea fiind un caracter extrem de variabil. Unii cercetători, de altfel, au reuşit, prin pasagii pe porumbei, să exalteze în aşa fel virulenţa tulpinilor de *Bact. murisepticum*, încît ele nu se mai deosebesc nici din acest punct de vedere de tulpinile izolate de la porci. Identitatea celor doi germeni reiese şi din cercetările care au dovedit că tulpinile de *Bact. murisepticum* vaccinează animalele faţă de tulpinile izolate în rujetul porcului şi invers.

Genul *Listerella* Pirie, 1927

Genul cuprinde o singură specie *L. monocytogenes*

Listerella monocytogenes Pirie, 1927

Sinonime: *Erysipelothrix monocytogenes* Topley şi Wilson, 1946. *Bacterium monocytogenes* Murray et. al., 1926. *Listeria monocytogenes* (Murray et al.) Pirie, 1927.

Bacteria este găsită, pentru prima oară, în 1911, în leziunile necrotice ale unui ficat de iepure. În 1926, germenul a fost izolat de la iepurii şi cobaii unei crescătorii (Murray şi col). In 1927, acelaşi germen este găsit în Africa de Sud, la şoarecele de deşert *(Tatera lobengula)*, iar în 1929, în lichidul cefalorahidian al unui băiat de 17 ani, care prezenta simptome de meningoencefalită.

Listerella, în urma acestor descrieri, a fost identificată la diverse specii animale — găină, gîscă, şobolan, cobai, vulpe argintie, porc, oaie, capră, vacă, cal, om — în diferite regiuni ale globului, Australia, Statele Unite ale Americii, Suedia, Germania, Franţa, Ungaria, etc. În U.R.S.S. boala a fost semnalată de Svinţov, (1948), Tregubova (1949), Uspenski (1954) şi alţii iar în R.P.R. ea a fost identificată de Volintir (1951).

Infecţia se caracterizează, de regulă, prin tulburări nervoase şi digestive, iar anatomo-patologic prin constituirea unor focare inflamatorii şi a unor noduli necrotici în meninge, creier, creieraş, măduva spinării — zona cervicală — şi uneori şi în alte organe ca ficat, miocard.

Caractere morfologice. *Listerella* se apropie morfologic de bacilul rujetului, cu care, de altfel, se pare că a fost uneori confundată. Bacteria se prezintă, într-adevăr, ca un bastonaş fin, lung de 1—8 microni, lat de 0,5—0,8 microni. Celulele bacteriene pot fi izolate sau grupate cîte două, paralel sau în lanţuri. În culturi se pot întîlni filamente lungi de 15—20 microni.

Listerella, spre deosebire de bacilul rujetului, este mobilă, dar mobilitatea sa este puţin accentuată. Elementele mobile sînt numeroase în culturi dezvoltate la 14—18°C şi lipsesc sau sînt rare la 37°C. Celulele mobile au 1—4 cili dispuşi peritrich.

Listerella nu capsulează, nu formează spori.

Este Gram pozitivă.

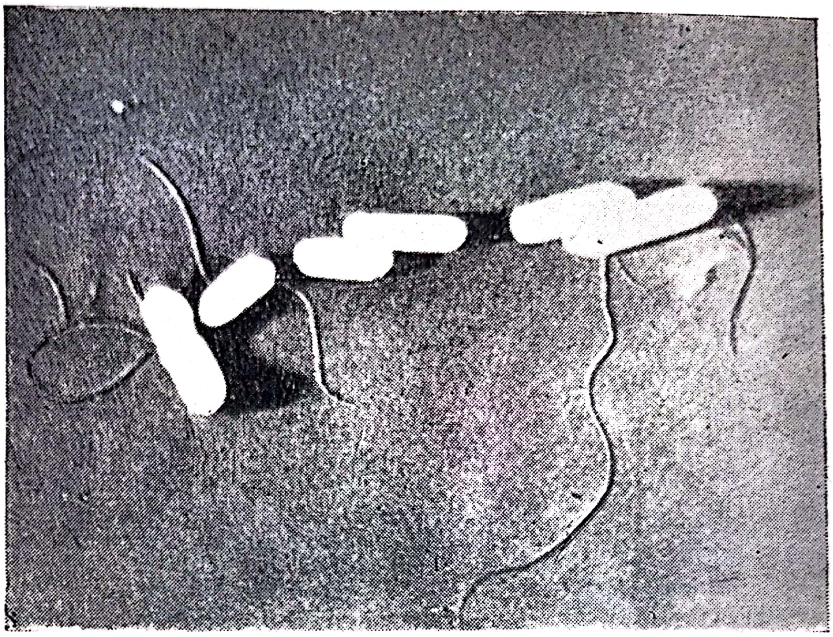


Fig. 61 — Listerella; imagine electronică; × 10 000 (după Csontos și col., 1955)

Cultură la 20°C.

Medii și caractere de cultură. Se dezvoltă în bulionul și pe agarul obișnuit, dar preferă mediile cu zaharurile pe care le fermentează sau mediile cu sînge sau ser. Se afirmă că agarul preparat din bulion cu ficat de oaie este mediul cel mai favorabil.

Bulionul, 24 de ore după însămînțare, devine tulbure; agitat, apar în el valuri, ca și în culturile de bacilul rujetului. La suprafața mediului se poate forma o peliculă. Cultura sedimentează prin învechire și depozitul vîscos aderă de fundul tubului; agitat, se ridică constituind o spirală continuă din fundul tubului pînă la suprafața mediului. În bulion cu ser germenul formează un depozit grunjos, mediul rămînînd perfect limpede. Acest fenomen se observă chiar cînd serul normal este diluat în mediu în proporție de 1/250.

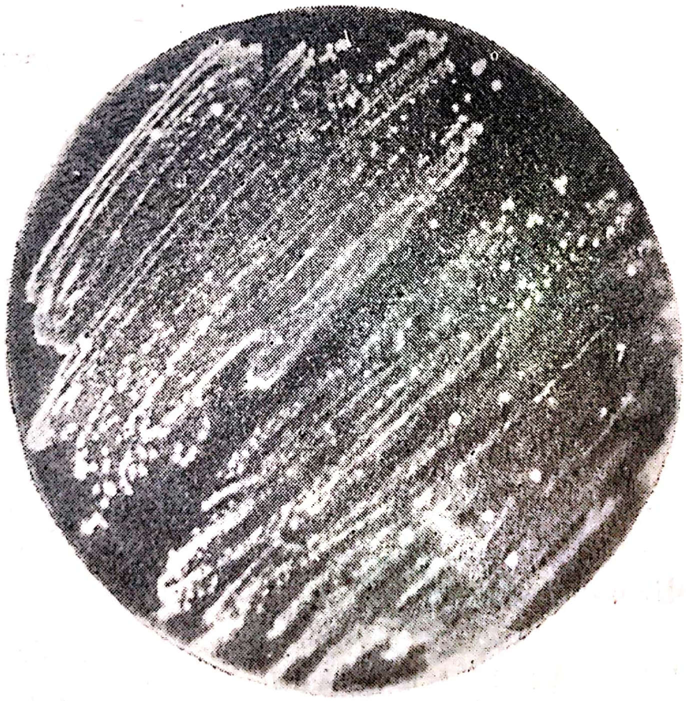


Fig. 62 — Listerella monocytogenes (după Kemenes, 1955)

Cultură de 24 ore pe agar cu sînge

Coloniile tinere, pe agar, sînt mici — în medie 1 mm în diametru — transparente; prin învechire ele devin vîscoase și de culoare albă-lăptoasă.

Listerella se multiplică în apa peptonată și în lapte. În gelatină, formează pe linia de însămînțare, colonii mici.

Nu se dezvoltă pe cartof glicerinat.

Proprietăți biohimice. *Listerella* nu coagulează laptele, nu lichefiază gelatina, nu produce indol și nici hidrogen sulfurat.

În agarul cu sînge, produce, după o incubație de 48 de ore, o zonă largă de hemoliză, ceea ce distinge *Listerella* de bacilul rujetului. Comportarea față de substanțele hidrocarbonate este foarte variată și datele din literatură sînt contradictorii. După Bergey (1948), toate tulpinile fermentează energic salicina, ramoza și glucoza și mai slab dextrina, zaharoza, amidonul solubil și glicerina. Maltoza și lactoza sînt atacate numai de unele tulpini. Arabinoza, galactoza, xiloza, manita, dulcita, inulina și inosita nu sînt fermentate. Juslin și Sternberg (1954) constată că tulpinile de *Listerella* fermentează constant dextroza, maltoza, ramnoza, esculina și hipuratul de sodiu ; sînt însă inactive sau puțin active față de lactoză și nu atacă zaharoza. Fermentarea maltozei, ramnozei, esculinei și hipuratului distinge, după autori, tulpinile de *Listerella* de cele de bacilul rujetului, care sînt inactive față de cele patru substanțe. Maltoza este totuși atacată de unele tulpini de bacili rujetici (vezi bacilul rujetului). Uspenski (1954) a examinat cinci tulpini și toate au fermentat glucoza și lactoza, numai trei au atacat maltoza și nici una nu a descompus zaharoza, manita, dulcita, arabinoza și xiloza.

Rezistența. Germenul este sensibil la căldură ; temperatura de 55°C îl omoară în 60, dar nu în 30 de minute.

Se conservă timp îndelungat în mediile de cultură și în organe. Culturile în bulion se transplantează ușor după 2 luni și chiar după 6 luni și mai mult. Un creier infectat, păstrat timp de 6 luni într-o soluție de 50% de glicerină, mai conține încă după acest interval, germenii vii. Durata de conservare este mai mică în medii cu zaharuri fermentescibile din cauza acidificării lor.

Structură antigenică. Diverși cercetători au preparat pe iepuri, prin inocularea intravenoasă a culturilor vii, seruri aglutinante sau precipitante destul de active. Titrul aglutinant poate atinge valoarea de 1/2 560. Serul normal de iepure nu are de loc sau are reduse (1/160—1/320) proprietăți aglutinante. Prin seroaglutinare s-au putut identifica patru tipuri serologice ; tipurile I și II au antigeni flagerali identici, dar diferă prin antigenii lor somatici ; tipurile III și IV diferă între ele atît prin antigenii somatici, cît și prin cei flagelari (Paterson și Drew 1940, Seeliger, 1954, Seeliger și Linzenmeier (1955). Tulpinile izolate din afecțiunile noinăscuților (copii) par a constitui un tip independent de cele patru tipuri amintite. Prin reacția de seroprecipitare tulpinile de *Listerella* pot fi împărțite în două grupe : tipul serologic I se izolează de la rozătoare, iar tipul II de la rumegătoare. Tulpinile umane se împart între cele două grupe. Tipul I nu imunizează față de tipul II și invers. Reacția de seroprecipitare se face cu seruri precipitante și cu polizaharidul extras din germeni după metoda lui Fuller (extracția din corpii microbieni prin formamidă, la 150°C sau alte metode similare, vezi Lancefield la capitolul streptococilor) descrise și la bacilul rujetului (hidroliză în mediu acid).

PROPRIETAȚI DE PATOGENITATE

Listerella nu secretă toxine și patogenitatea sa se datorește capacității sale de multiplicare în țesuturile vii, deci virulenței. Virulența variază în limite largi de la o tulpină la alta. Astfel, sînt tulpini foarte virulente și

IAȘI

tulpini mult atenuate. Acestea din urmă se pot izola chiar de la animale spontan infectate. Ele sînt total inactive sau nu omoară animalele de experiență decît în doze mari. Astfel, cele două tulpini de *Listerella* izolate în R.P.R. și examinate de Volintir și Ungureanu (1951) erau apatogene pentru porumbel și iepure. Una din ele era inactivă chiar și pentru șoarece, iar a doua îl omora numai în doză de 0,5 ml de cultură de 24 de ore în bulion.

Infecția experimentală. În condiții experimentale, infecția poate fi reprodusă cu tulpini virulente, la iepure, cobai, șobolan, șoarece, găină, porumbel, porc, oaie etc.

Iepurele tînăr se infectează pe cele mai diverse căi. Cultura de 24 de ore în bulion a tulpinilor virulente, administrată pe cale subcutană, intravenoasă sau intraperitoneală, în doză de 0,1 ml omoară în mod regulat iepurii tineri. Boala durează 3—5 zile. La autopsie se constată noduli necrotici în ficat, epiploon, capsulele suprarenale. Nodulii conțin foarte mulți germeni. Calea intracerebrală este cea mai severă și dozele de 0,01 ml produc o meningită purulentă, mortală în 2—3 zile.

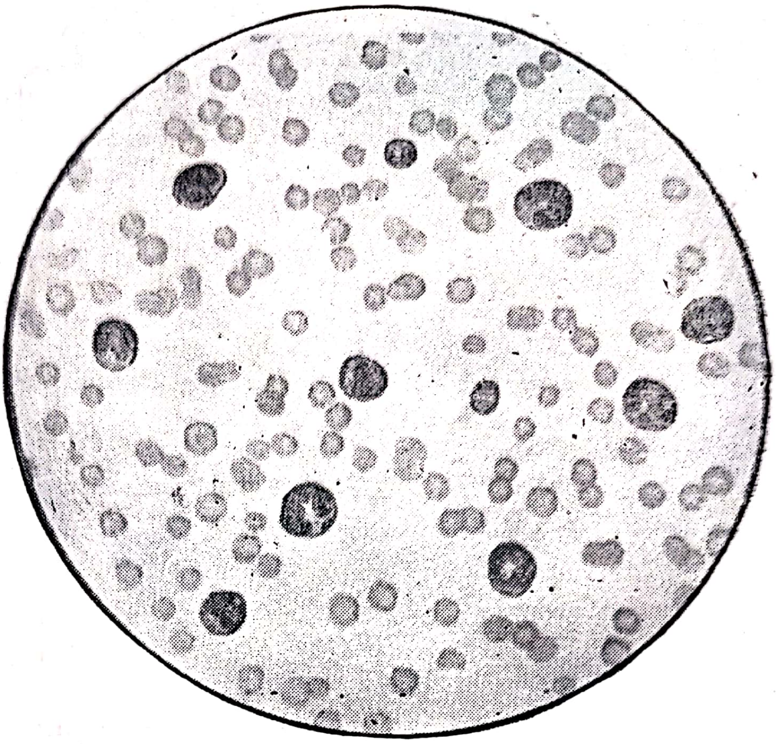


Fig. 63 — Imaginea sîngelui la un iepure inoculat cu o doză submortală de *Listerella* (după Lilleengen)
Se observă prezența monocitelor

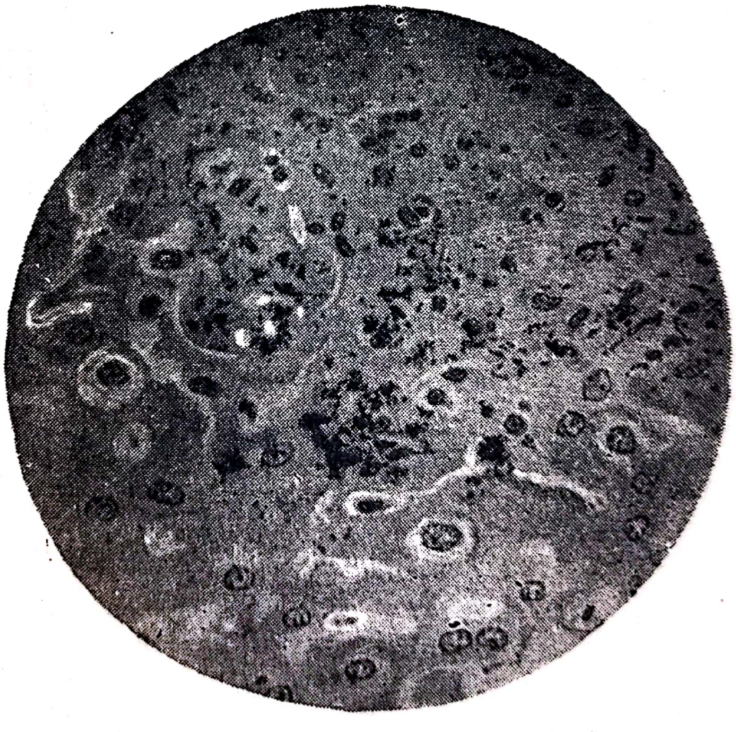


Fig. 64 — Secțiune printr-un ficat de iepure mort de listereloză; × 900 (după Lilleengen)
Se observă un focar necrotic în care sînt numeroase listerele. Colorație: Gram

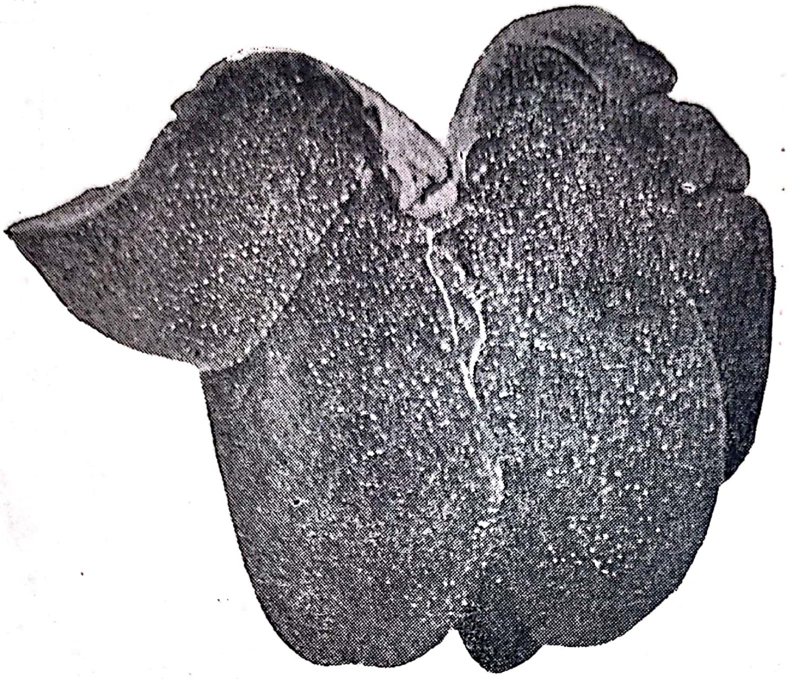


Fig. 65 — Ficat de iepure mort de listereloză (după **Lilleengen**)

Se observă numeroase focare necrotice

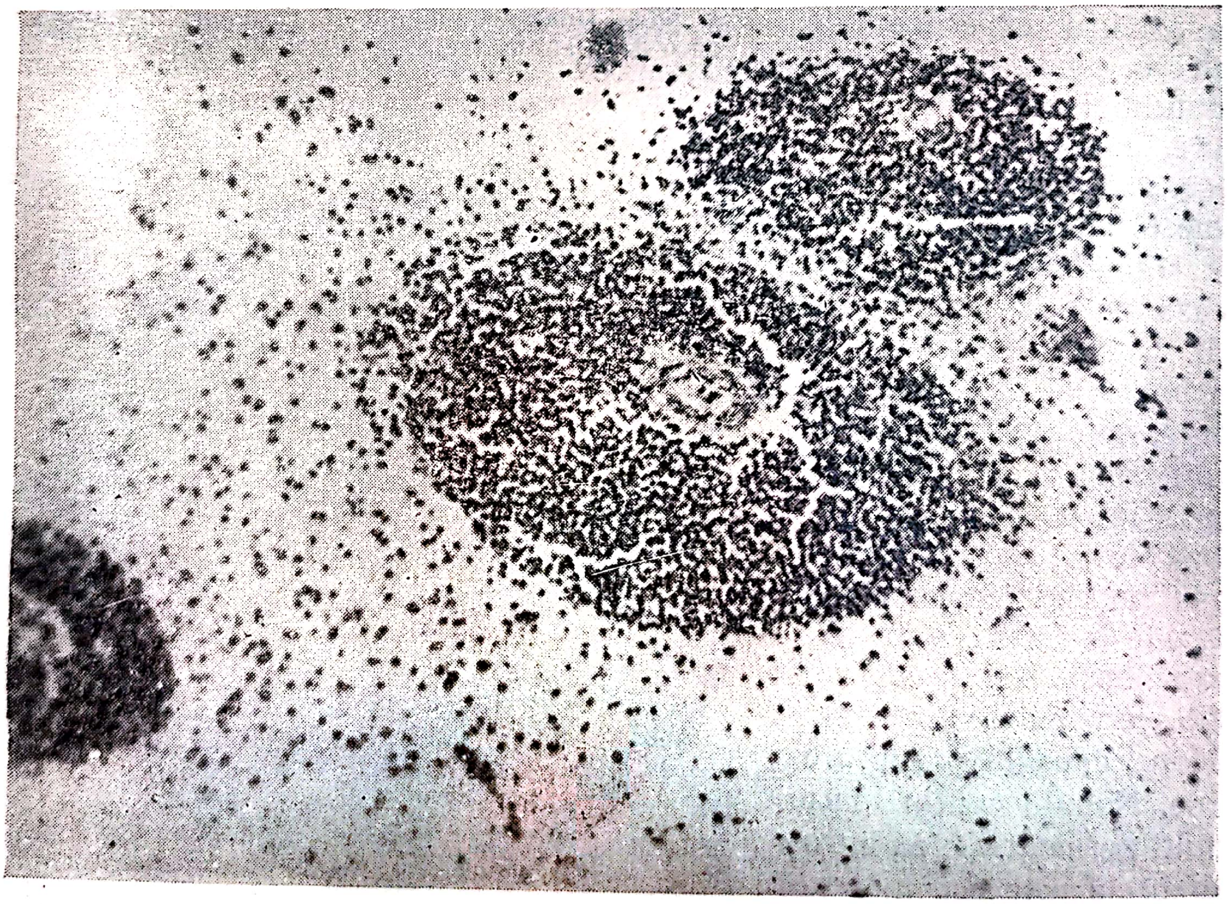


Fig. 66 — Manşoane perivasculare în creierul unui iepure inoculat cu emulsie de creier de gîscă cu listereloză (după **Csontos** şi col.)

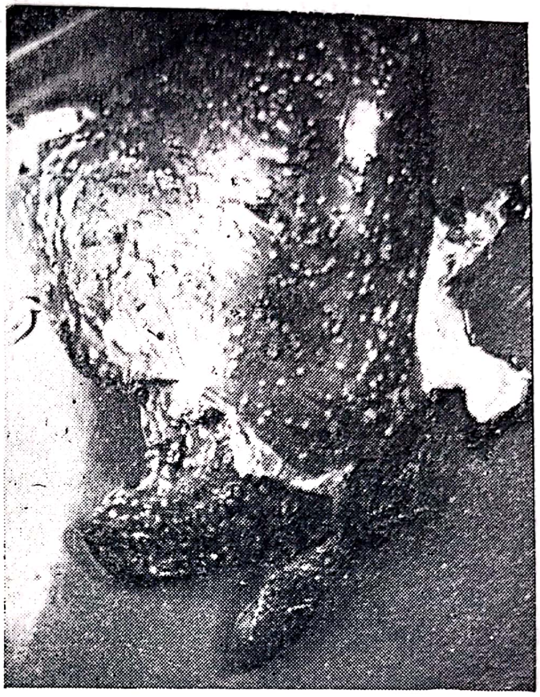


Fig. 67 — Leziuni provocate de *Listerella monocytogenes* în ficat de oaie (după Ivan Ivanof)

Se poate obţine la iepure, mononucleoză, cheratită şi conjunctivită muco-purulentă, instilînd o picătură de cultură în sacul conjunctival. Reacţia este caracteristică şi poate servi pentru identificarea tulpinilor. Tulburările oculare apar chiar a doua zi după instilaţia culturii şi se traduc prin fotofobie, edem al pleoapelor şi inflamaţia mucoasei conjunctivale. Corneea devine în scurt timp opacă şi prezintă pe suprafaţă crăpături fine. Boala durează 5—10 zile şi se termină de regulă, cu vindecarea ; uneori animalul poate pierde ochiul din cauza perforării corneii.

Cobaiul este mai rezistent decît iepurele tînăr. Astfel, doza de 0,1 ml de cultură este în general inactivă pe cale subcutană. Pe aceeaşi cale, doza de 0,5 ml produce doar un uşor edem local, vindecabil. O infecţie mortală se poate produce pe cale intraperitoneală şi intravenoasă. Pe această din urmă cale doza de 0,1 ml omoară cobaiul în 3—5 zile, iar pe cale intraperitoneală doza de 1 ml îl omoară în 4—5 zile, animalul prezentînd cu 1—2 zile înainte de moarte, contracţia muşchilor masticatori. La autopsia cobailor morţi se constată focare necrotice în ficat şi miocard. Depunerea culturii pe mucoasa conjunctivală provoacă în 2—3 zile o conjunctivită purulentă, cu cheratită. În aceleaşi condiţii bacilul rujetului nu provoacă nici o tulburare.

Şoarecele este omorît în 6—10 zile de 0,1 ml de cultură de 24 de ore, administrată pe cale subcutană. La autopsie se găsesc focare necrotice în ficat şi congestie intestinală. Şoarecii injectaţi intraperitoneal mor după 1—14 zile ; focare necrotice în ficat se găsesc numai la şoarecii care mor după 4 zile de la infecţie (Uspenski, 1954). Infecţiile intranazale sînt cele mai severe ; pe această cale se obţin o meningită şi hepatită necrozantă mortală, care se apropie de aspectul anatomo-patologic al infecţiei naturale. Şoarecii, după Juslin şi Stenberg (1954) devin mult mai sensibili, dacă concomitent cu infecţia listerelică li se administrează, per os, o tulpină toxică de colibacil.

Şobolanul se infectează în aceleaşi condiţii ca şi şoarecele.

Găina poate fi infectată experimental. Embrionii de găină sînt foarte sensibili. Însămînţarea lor, în a 14-a zi de incubaţie, cu o doză mică de cultură (0,1 ml dintr-o diluţie 10^{-7} ml de cultură de bulion), le aduce moartea. La autopsie se găsesc leziuni necrotice pe membrana corioalantoidiană, ca şi în ficat, cord şi sistemul nervos. Leziunile sînt evidente la 60 de ore după însămînţare.

Porumbelul este puţin receptiv sau chiar poate fi socotit refractar.

Oaia. Unii autori reproduc infecţia, cu tot cortegiul simptomatic al bolii naturale, prin inoculări repetate de cultură virulentă, pe cale intramusculară. Kemenes (1955) observă, de exemplu, că administrarea culturii per os, produce doar o reacţie termică, care durează 1—2 zile, şi o leucocitoză trecătoare. Prin inocularea culturii în carotidă sau în creier autorul provoacă însă o encefalită mortală, care se deosebeşte net de cea naturală. Inoculările subcutane, intradermice prin scarificaţii sau per os nu produc simptome clinice, dar duc la o creştere a titrului de anticorpi. Unele oi, în urma inoculărilor repetate de cultură pe cale subcutană, fac o hepatită necrotică fatală, chiar dacă tulpina folosită este puţin patogenă.

Porcul, în special cel tînăr, este receptiv şi inoculat subcutan cu material patologic el face o boală febrilă, uneori vindecabilă. Febra apare după 5—7 zile de la infecţie şi durează timp de 7—8 zile. Animalele, în perioada febrilă, au apetitul redus şi o accentuată stare de slăbiciune şi torpoare. La autopsie, se găsesc de obicei focare necrotice în ficat şi uneori şi în pulmon.

Peştii, injectaţi intraperitoneal, sau cărora li se administrează culturile per os, nu se îmbolnăvesc, dar conservă mult timp bacilii în organe, în special, în rinichi, de unde îi elimină prin urină. Păstrăvii însă par a face excepţie, ei arătîndu-se foarte receptivi şi făcînd o infecţie mortală în urma administrării culturei pe diverse căi.

Tabelul 39

Principalele caractere distinctive între E. rhusiopathiae şi L. monocytogenes

Specia	Mobilitatea	Producţia de SH_2	Hemoliza globule roşii de iepure	Lichefierea gelatinei	Patogenitatea pentru porumbel	Patogenitatea pentru cobai
E. rhusiopathiae	—	+	— sau +	— sau +	+	—
L. monocitogenes	+ În special la 22°C	—	++	—	—	+

INFECŢIA NATURALĂ

În condiţii naturale, listereloza a fost întîlnită la om, bovine, ovine, porc, păsări, iepuri, cobai, vulpe argintie, cocoş de munte, păstrăvi etc. Tabloul clinic şi anatomo-patologic al infecţiei naturale este diferit — în linii generale — de cel al infecţiei experimntale. Aceste diferenţe, precum şi lipsa de contagiozitate a bolii ar putea justifica opinia după care listereloza este o infecţie secundară. Cercetîndu-se patogenitatea filtratelor obţinute din leziunile de listereloză, nu s-a putut însă observa nici o acţiune patogenă pentru animalele de experienţă ceea ce pare a exclude intervenţia unui virus. Este probabil că factori neanimaţi — avitaminozele, frigul — intervin totuşi în pregătirea condiţiilor necesare izbucnirii infecţiei listerelice.

În acest sens pledează şi faptul că germenii au putut fi găsiţi pe mucoasele sau chiar în organismul animalelor clinic sănătoase. Există, probabil, purtători şi printre animalele sălbatice. Kratoklevil (1953), de exemplu, reuşeşte să izoleze germenul de la şobolanii de cîmp şi din corpul unor căpuşe — *Ixodes ricinus*. În vederea izolării, ganglionii limfatici şi splina de la şobolan sau căpuşele triturate au fost inoculaţi la şobolani.

Calea de acces a germenilor în organism nu poate fi în toate cazurile precizată. Traub admite că la iepure germenul ar pătrunde prin canalul auditiv. La celelalte specii, germenul pare a urma calea nazală.

Pătrunderea germenului prin mucoasa conjunctivală nu poate fi exclusă. Astfel, într-o enzootie la viţel, s-a observat că din 27 de viţei care erau într-o turmă 8 au murit, iar restul au prezentat leziuni ale mucoasei conjunctivale, ceea ce pare a arăta că în acest caz infecţia s-a făcut pe cale oculară.

Caracterul infecţiei la diverse specii animale

La ovine au fost descrise infecţii cu *Listerella* întîi în Noua-Zeelandă de către Gill (1931—1933), apoi în Australia, Statele Unite, Germania şi Franţa. În Ungaria, boala a fost identificată de Macsy şi Salyi, de Kemenes (1955), Csontos şi Pesti (1955). În U.R.S.S., Uspenski (1954) a semnalat existenţa unor focare de listereloză la ovine în regiunea Kalinin. Autorul crede că boala este destul de răspîndită şi că relativa raritate a cazurilor se datoreşte faptului că în laboratoarele de diagnostic nu se face totdeauna un examen bacteriologic al creierului. Boala apare iarna sau la începutul primăverii, cînd animalele primesc hrana uscată, săracă în special în vitamine (Tiuşneakova, 1955). Animalul bolnav stă culcat, imobil ; sculat în picioare el rămîne pe loc ; împins, face cîţiva paşi nesiguri şi apoi se culcă. Prezintă paralizii ale muşchilor masticatori şi de aceea animalul ia fînul, dar rămîne cu el între buze. Deglutiţia, tot din cauza paraliziilor musculare, se face cu greutate sau de loc. S-a mai observat că uneori oile bolnave se învîrtesc în cerc. Tulburări ale vederii, opacifieri ale corneii, dilataţii pupilare unilaterale, precum şi o deviaţie laterală a gîtului au fost de asemenea semnalate în infecţiile listerelice.

Tiuşneakova (1955) descrie un caz la care boala se manifestă, printre altele, prin crize convulsive. Animalul stătea liniştit, dar de îndată ce era atins apărea un acces convulsiv, cădea jos şi cu extremităţile făcea energice mişcări de lopătare ; capul era dat pe spate ; din nas şi din gură se scurgea un lichid spumos filant.

În formula leucocitară a oilor bolnave de listereloză intervin modificări însemnate, şi anume se constată monocitoză şi neutrofilie, precum şi o scădere masivă a numărului de limfocite.

Mortalitatea, în regulă generală, este mai mică de 10%.

Leziuni macroscopice nu se găsesc în organele animalelor moarte, observîndu-se doar o uşoară congestie a meningelor. Leziuni microscopice

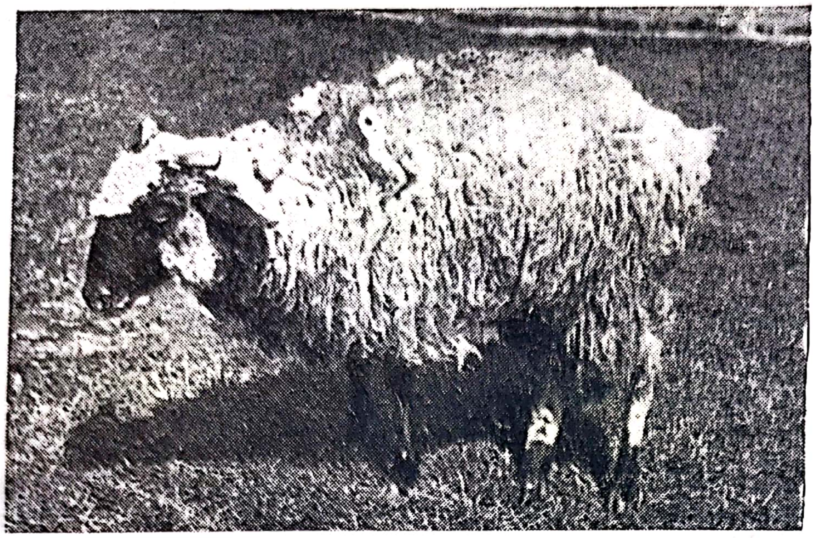


Fig. 68 — Encefalomielită listerelică la oaie (după Ivan Ivanof)

sînt prezente și foarte severe. Ele constau din congestie și infiltrație a meningelor; în bulb se găsesc infiltrații perivasculare, cu limfocite și monocite, focare de infiltrații, cu polinucleare independente de vasele sanguine și degenerescență neuronală.

Germenul, de regulă, nu se izolează decît din țestul nervos, în special din bulb (Kemenes, 1955). Bulbul, într-adevăr, conține pînă la 2 milioane de germeni într-un gram de substnață, iar creierașul și creierul numai 80. Kemenes (1955) recomandă ca însămînțările din țesutul nervos să se facă în bulion cu 0,3% tioglicolat de sodiu și 10% sînge de oaie. Tioglicolatul înlătură lipoizii tisulari din jurul germenilor, aceștia putîndu-se astfel elibera din masa lipoidică și multiplica.

La oi, pe lîngă formele manifeste de boală, se întîlnesc și forme inaparente, care se pot descoperi serologic. Animalele al căror ser aglutinează unul din tipurile de *Listerella*, la un titru mai mare ca 1/40, trebuie considerate infectate. Oile purtătoare își pot infecta fetusul, producîndu-se în acest caz avortul. Avorturile listerelice la oi au fost semnalat de mulți cercetători, și în ultimul timp de Csontos și Pesti (1955) în Ungaria. Autorii constată că în turme în care s-au semnalat cazuri de encefalită atribuite cenurozei au apărut și avorturi, care au atins în unele turme un procent de 5—20%. Avortonii pot prezenta necroze miliare în ficat. *Listerella* se izolează din organele parenchimatoase. Autorii observă că oile care au avortat dau reacții serologice, pozitive (seroaglutinare și fixare de complement). Avorturi listerelice la oi au fost semnalate și la noi în țară în 1957 de Sîrmon și Marica.

La porc, infecția are caracter sporadic, rar enzootic; se întîlnește, mai cu seamă la purcei sub 3 luni, și poate evolua ca o infecție septicemică, febrilă (41—42°C), sau, în cazul cînd germenul se multiplică în creier, ca o encefalită, în general afebrilă. În acest din urmă caz se observă tulburări nervoase: pareze, hemiplegii, stări de agitație (animalele se izbesc cu capul de pereții adăposturilor sau prezintă accese epileptiforme). Formele nervoase se pot confunda cu boala lui Aujeszky sau boala de Teschen, iar formele septicemice cu rujetul (Solomkin, 1954). La purceii morți în urma unei infecții septicemice se constată la autopsie edem și congestie pulmonară, uneori chiar focare de bronhopneumonie; hemoragii subcapsulare în rinichi, catarul şi congestia mucoasei stomacale şi intestinale, hemoragii punctiforme în mucoasa intestinală, numeroase focare necrotice în ficat cu degenerscenţa ficatului. În formele nervoase nu se observă leziuni macroscopice.

La cai, infecţia a fost întîlnită şi descrisă, printre alţii, de Schiladze (1953) în U.R.S.S. Boala s-a manifestat prin febră, astenie, hiperemia mucoaselor şi tulburări nervoase.

La bovine s-au semnalat avorturi listerelice de către Amanjulov (1953).

Jones (1954) descrie la bovine două cazuri de encefalită cu paralizia facialului, hiperestezie, învîrtire în cerc, stare de agitaţie. Animalul alerga pe păşune cu limba afară ; el nu putea să bea apă din cauza paraliziei faciale ; respiraţia era dispneică, sforăitoare.

Unii cercetători (Saharov şi Gudkov) admit că febra catarală malignă nu este decît o listereloză, ceea ce după Stolnikov (1955) nu corespunde realităţii.

La iepuri şi cobai boala a fost descrisă în 1926.

Infecţia, la aceste specii, îşi face apariţia, de obicei, o dată cu reducerea raţiei de alimente verzi şi cu apariţia frigului. Ea se poate manifesta prin diaree şi slăbire. Uneori, animalele prezintă şi tulburări nervoase, ca dificultăţi în prehensiunea alimentelor, ţinerea capului pe o parte etc. Aceste simptome sînt urmate de tulburări de echilibru ; împins, animalul cade jos şi se învîrteşte ca un butoi, fără a putea reveni la poziţia normală. Tabloul sanguin poate fi neschimbat sau poate prezenta o uşoară monocitoză — 6,5% monocite.

La autopsia cobailor se constată o coloraţie verzuie a pielii, în special a celei de pe abdomen. Ţesutul conjunctiv subcutan, ca şi seroasele şi ganglionii limfatici, sînt edemaţiaţi. Ficatul este congestionat şi poate prezenta puncte necrotice. Pulmonul edemaţiat şi presărat cu infarcte. Pe miocard se pot găsi echimoze, iar în miocard, zone necrotice. Leziunile macroscopice lipsesc în unele cazuri ; microscopic, se poate observa, frecvent, o hiperleucocitoză mononucleară în toate ţesuturile.

Leziuni ale ţesutului nervos se găsesc la autopsia animalelor care au prezentat clinic tulburări nervoase. Aceste leziuni constau fie din infiltraţii perivasculare, fie din infiltraţia întregului ţesut nervos, cu celule rotunde sau polimorfonucleare, fie din noduli pseudotuberculoşi. Centrul nodulului este necrotic şi acesta este înconjurat de celule epitelioide, care, la rîndul lor, sînt înconjurate de o coroană de limfocite şi polinucleare, iar la exterior se observă o proliferare a ţesutului conjunctiv. Meningele sînt infiltrate.

Germenii nu se găsesc decît în leziuni ; ei nu se izolează decît din creier, cînd leziunile sînt limitate la acest ţesut.

Găina prezintă o listereloză spontană. Boala se manifestă prin diaree şi somnolenţă. Animalul slăbeşte şi moare în comă. La autopsie se constată exudate abundente în cavităţile peritoneală, pleurală şi pericardică, precum şi noduli necrotici în ficat şi miocard. Thompsen (1954) găseşte într-un

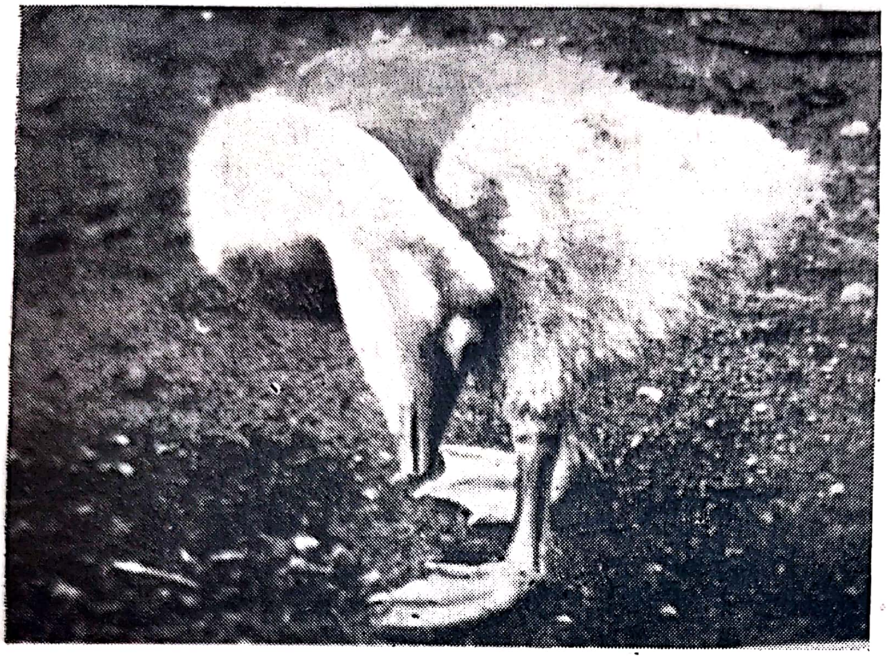


Fig. 69 — Boboc de gîscă bolnav de listereloză (după Csontos și col., 1955) Simptome nervoase

caz cronic localizări în ficat și rinichi. Ficatul era cirotic și, după aspectul macroscopic, părea a fi leucotic. Există deci posibilitatea de a confunda leucoza cu listereloza.

Gîștele, în special bobocii tineri de 2—3 săptămîni, se pot infecta cu *Listerella*, infecția avînd o evoluție gravă și producînd pierderi însemnate. Asemenea infecții au fost întîlnite în ultimul timp în Ungaria și descrise de Csontos și Tóth (1955). Boala poate avea o evoluție supraacută sau acută. In formele supraacute, simptomele sînt imperceptibile, animalele prezentînd înainte de moarte doar o astenie, care durează cîteva ore. In formele acute, se observă pierderea apetitului, catar nazal, diaree, dispnee, uneori cheratite și conjunctivite. La animalele la care boala durează mai mult timp, apar tulburări nervoase, care constau din contracții spasmodice ale mușchilor gîtului, opistotonus etc. Procentul de morbiditate poate atinge 40%, iar mortalitatea, printre bobocii îmbolnăviți, este de 100% (Csontos și Tóth). Bobocii mai mari de 8 săptămîni, ca și gîștele adulte, nu se îmbolnăvesc, chiar dacă sînt în contact intim cu bobocii bolnavi.

Modificările anatomice, la gîște, sînt în special de tip degenerativ. Se remarcă în special degenerarea miocardului și ficatului. In ficat se pot observa puncte necrotice asemănătoare cu cele întîlnite în holera aviară. Histologic, aceste puncte se prezintă ca focare de necrobioză, cu slabe reacții inflamatorii. In zonele de degenerescență din miocard se constată histologic proliferarea țesutului conjunctiv și prezența unei mase hialine săracă în nuclei .Reacția inflamatorie este și aici redusă ; se observă în jurul focarelor degenerative ușoare infiltrații cu histiocite și polinucleare. In cavitățile seroase și sacii aerieni poate fi prezent un exudat sero-fibrinos. Se mai observă edem pulmonar și enterită. Creierul este congestionat ; în creieraș și bulb se pot găsi infiltrații perivasculare.

Examenul bacteriologic permite constant izolarea germenului din ficat, cord și creier. Bacteria se izolează și din măduva osoasă.

Păstrăvii sînt receptivi. Stamatin și col. (lucrare inedită) au descris un focar în care mortalitatea a fost destul de mare. Germenul s-a izolat constant din organele păstrăvilor morți.

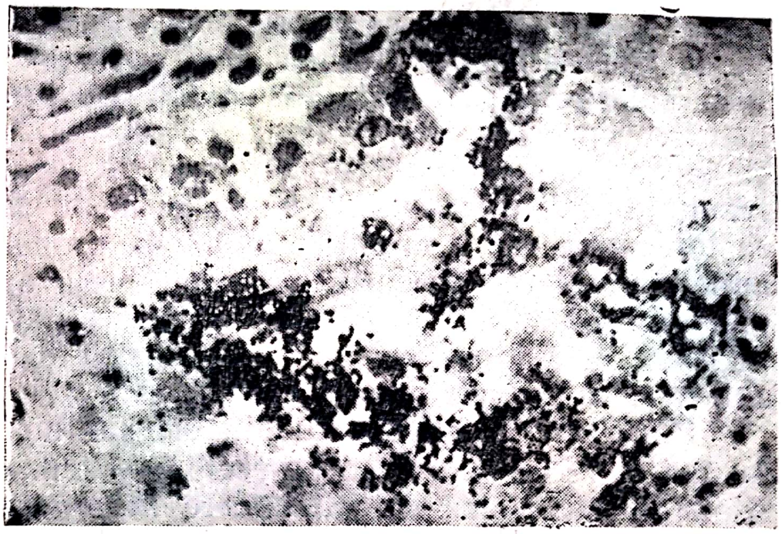


Fig. 70 — Mase de *Listerella* într-un tub renal la pasăre; × 966 (după Thompsen)

La om, infecția cunoscută sub numele de febră glandulară sau mononucleară a fost considerată, de unii cercetători (Schmidt și Nyfeld, 1938, Pons și Julianelle, 1939, Flamm și col. 1954) ca o listereloză, pentru că au reușit să izoleze de la bolnavi o listerelă. Alți cercetători socotesc maladia ca o infecție virotică și prezența germenului întîmplătoare. Boala evoluează ca o meningoencefalită. Germenul *(Listerella)* a fost izolat, în aceste cazuri, din sînge și lichidul cerebrospinal. In afară de această febră glandulară, a cărei etiologie listerelică este îndoielnică, s-au identificat alte stări patologice, în care intervenția listerelei este certă. Astfel, în clinica umană se disting șase forme de listereloză (Gudkova), și anume: angino-septicemică cu mononucleoză, oculogranulomatoasă, septico-tifică, meningo-encefalitică, septico-granulomatoasă și listereloza de graviditate. Amidgalitele listerelice par a fi destul de frecvente, după Gudkova (1955). Germenul în aceste cazuri este prezent și se poate izola din amigdale. El poate fi pus în evidență și în frotiurile făcute cu material recoltat din regiunea faringiană (Urbach și Schabinski, 1955). Bolnavii și convalescenții conțin anticorpi specifici în serul lor sanguin. Infecții listerelice cu evoluție gravă mortală s-au descris și la copii în vîrstă de cîteva zile (Muray, 1955), sub numele de febra granulomatoasă a noi-născuților, precum și la copii în vîrstă de cîteva luni (Lang, 1956).

Diagnosticul clinic al listerelozei este greu de precizat. Examenul sîngelui poate da unele indicații, mai ales atunci cînd se decelează o monocitoză ridicată. Această modificare a formulei leucocitare poate însă lipsi. Reacțiile serologice — seroaglutinarea — pot fi folosite de asemenea pentru diagnosticul bolii în timpul vieții. Solomkin (1954) constată că la porcii trecuți prin boală, și la care diagnosticul clinic nu fusese precizat, s-au obținut reacții de aglutinare pozitivă la titrul de 1/80—1/320 cu un antigen listerelic și negativ cu un antigen rujetic. După moarte, modificările anatomice, macro- și microscopice, dau indicații utile, iar examenul bacteriologic completează diagnosticul. Prezența germenilor nu pare a fi constantă. S-a observat astfel într-o crescătorie că din nouă iepuri morți de listereloză, numai de la șapte s-a putut izola germenul, deși toți nouă au prezentat modificări clinice şi anatomice tipice infecţiei. Se pare că germenul nu mai poate fi izolat atunci cînd boala evoluează mai îndelung. El este însă izolat cu regularitate din cazurile cu evoluţie rapidă. Prezenţa sa este mai frecventă în creier decît în alte organe. Schiladze (1955) constată că inocularea materialului patologic la iepure sau cobai dă mai frecvent rezultate pozitive ca însămînţarea pe medii de cultură, de aceea recomandă ca totdeauna să se practice amîndouă probele. Germenul izolat este examinat în vederea precizării speciei căreia aparţine, din punct de vedere morfologic, cultural şi biochimic. Proba patogenităţii este de asemenea necesară în diagnosticul speciei şi instilarea culturii în ochi la cobai pare a da rezultatele cele mai precise (Lucas şi col., 1955).

Profilaxie şi tratament. Măsuri sanitare de combatere a listerelozei nu pot fi recomandate, deoarece nu se cunoaşte nici habitatul agentului etiologic, nici calea de pătrundere în organism. Este prudent, totuşi, ca animalele bolnave să fie izolate de cele sănătoase, deşi pînă în prezent infecţia nu a avut niciodată un caracter contagios.

Vaccinarea animalelor receptive nu prezintă importanţă practică, dat fiind caracterul sporadic al infecţiei. S-a folosit, într-o crescătorie de iepuri angora, în care se ivise cazuri de boală, un vaccin constituit dintr-o cultură în bulion glucozat, omorîtă prin formol, dar nu se poate trage o concluzie valabilă din această încercare. Vaccinarea experimentală a iepurelui a dat rezultate nesatisfăcătoare. S-a constatat că, totuşi, cobaii care rezistă la o primă inoculare de cultură vie suportă o nouă injecţie cu o doză de cultură sigur mortală. Oaia nu se imunizează prin inocularea culturilor vii.

Sulfamidele, în special sulfapiridina, sînt de un real folos în tratamentul listerelozei la om şi animale, aşa cum arată cercetările experimentale făcute pe şoareci, cît şi observaţiile clinice la om şi bovidee.

Streptomicina pare încă mai activă decît sulfamidele, şi cu ajutorul ei se obţin frecvente vindecări în formele nervoase sau pulmonare de listereloză umană.

Aureomicina este de asemenea activă, atît in vitro cît şi in vivo. In vitro, inhibă dezvoltarea germenilor în doză de 0,1 gama pe 1 ml. In vivo, la bobocii de gîscă, dă rezultate pozitive, aşa cum au observat Csontos şi Tóth (1955). La bovine, Jones (1954) obţine vindecarea asociind în tratament, penicilina cu streptomicina. Penicilina, după Solomkin (1954), Vendrov (1954), dă bune rezultate şi în tratamentul listerelozei la porci.

BIBLIOGRAFIE

AMANJULOV S. A. — Avortul caprelor şi îmbolnăvirea iezilor provocate de listerela şi rezultatul tratamentului cu sulfantrol. *Veterinaria*, 1953, 8, p. 22.

BELIN şi LAGRIFFOUL — Listereloza ovină: primele cazuri constatate în Franţa. *Bull. Acad. Vét. France*, 1943, I, 16, p. 376.

CSONTOS L. D. şi TÓTH B. — Listerioza la bobocii de gîscă. *Magyar állatorv. Lapja*, 1955, nr. 4, p. 110 şi *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, 1955, 5, p. 261.

CSONTOS I. şi PESTI — Listerioza avortivă la oi. *Magyar állatorv. Lapja*, 1955, nr. 4, p. 118.

FLAMM H. şi col. — Un caz vindecat de meningită produs de Listeria. *Wien, Klin. Wochensch.*, 1954, 66, p. 553.

GUDKOVA E. — Diagnosticul anginelor listerelice. *J. microbiol, epidemiol, immunobiol.*, 1956, nr. 8, p. 31.

HALIMBEKOV M. M. — Listereloza oilor şi caprelor. *Veterinaria,* 1952, nr. 7, p. 37.

JONES E. W. — Encefalita datorită speciei Ehrysipelotrix monocytogenes (cicling disease) la bou. *Vet. Rec.*, 1954, 66/21, p. 296.

JUSLIN K. E. şi STENBERG H. — Cercetări experimentale comparative între E. rhusiopathiae şi L. monocytogenes izolate de la păsări în Finlanda. *Nord. Vet. Med.*, 1954, 6/6, p. 457.

KEMENS F. — Date asupra agentului etiologic al listeriozei ovine şi asupra metodelor de cultură. *Magyar állatorv. Lapja,* 1955, nr. 4, p. 115.

KRATOKLEVIL N. L. — Izolarea speciei Listerella monocytogenes de la şobolanii de cîmp şi de la căpuşa Ixodes ricinus. *J. mikrobiologhii, epidemiologhii i imunologhii,* 1953, nr. 11, p. 60.

LANG KONRAD — Problema listerelozei la copii mici. *Monatschr. Kinderheilkunde,* 1955, 103, nr. 1, p. 17.

LILEENGEN K. — Listereloza la cocoşul de munte. *Svenska Jägareförbandet Meddelande,* 1942, 5.

LUCAS A. şi col. — Studiul listerelozei şi a speciei L. monocytogenes la unele animale *Réc. Méd. Vet. Alfort,* 1955, 131, p. 151.

MURRAY D. — Caracteristica listerelozei la om şi animale. *Canad. Med. Ass. J.*, 1955, 72, p. 99.

SCHILADZE M. V. — Listereloza cailor şi porcilor. *Veterinaria,* 1953, nr. 9, p. 23.

SEELIGER H. — Biotipuri la Listeria monocytogenes. *Z. f. Hyginfektionskr.*, 1954, 139, p. 389.

SEELIGER H. şi LINZENMEIER G. — Studiul serologic al tulpinilor de L. monocytogenes izolate în Franţa. *Ann. Inst. Pasteur,* 1955, 88, p. 127.

SOLOMKIN S. P. — Problema listerelozei la porci. *Veterinaria,* 1954, nr. 1, p. 24.

STOLNIKOV I. V. — Febra catarală malignă şi listereloza taurinelor. *Veterinaria,* 1955, nr. 9.

SVINŢOV M. P. — Listereloza animalelor. *Veterinaria,* 1948, nr. 7.

THOMPSEN C. H. — Modificări patologice neobişnuite într-un caz de listerioză la pasăre. *Am. J. Vet. Res.*, 1954, 15, p. 130.

TIUŞNEAKOVA K. M. — Listereloza oilor. *Veterinaria,* 1955, nr. 9.

TRAUB E. — Asupra unei meningoencefalite a iepurilor de casă asociată cu bacterii asemănătoare cu Listerella. *Zbl. f. Bakt.*, 1942—1943, Bd., 149, p. 38.

TREGUBOVA G. N. — Listereloza animalelor domestice, a păsărilor şi a animalelor de blană. *Veterinaria,* 1949, nr. 1 p. 27.

URBACH H. şi SCHABINSKI G. — Despre listereloza la om. *Z. Hyg. Infektionskrankh.* 1955, 141, p. 139.

USPENSKI I. M. — Listereloza oilor. *Veterinaria,* 1954, nr. 2, p. 23.

VENDROV A. A. — Listereloza porcilor. *Veterinaria,* 1954, nr. 8.

VOLINTIR V. şi UNGUREANU C. — Identificarea listerelozei la animale în R.P.R. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 162.

ZAGUROKII N. I. şi POGORELEV S. A. — Listereloza porcilor. *Veterinaria,* 1950, nr. 10, p. 26.

Genul *Lactobacillus* Beijerinck, 1900

În acest gen sînt incluse o serie de specii bacteriene, ai căror germeni au comune următoarele proprietăți.

1. Sînt de formă bacilară, alungită, fină, izolați sau în lanțuri.
2. Se colorează Gram pozitiv.
3. Sînt nesporulați și neciliați.
4. Rezistă și se cultivă în medii acide — pH = 3,5—4,5 — ceea ce permite izolarea lor de alte bacterii. În acest scop, materialul care îi conține se însămînțează fie în bulion glucozat cu pH = 3,5, fie se ține 1—3 zile în bulion acidulat cu 0,5% acid acetic și apoi se însămînțează pe medii potrivite. Rezultate bune se obțin cu mediul Veillon, precum și cu agar gluclozat cu cisteina sau agar de tomate.
5. Unele specii sînt termofile, cu o temperatură optimă de dezvoltare cuprinsă între 40 și 60°C.
6. Fermentează constant glucoza și lactoza cu producție, în special, de acid lactic.
7. Se cultivă în bulion sau pe agar cu glucoză, dar nu în bulion sau pe agar simplu. Sînt microaerofile și nu au catalază.
8. Sînt răspîndiți în natură și pot fi izolați din tubul digestiv, de pe diverse mucoase de la om sau animale, din lapte, furaje fermentate etc.
9. Nepatogeni pentru om și animale. S-a admis, dar nu s-a dovedit, că unele specii (*L. odonolyticus* I și II) (vezi Topley și Wilson) ar interveni în producerea cariilor dentare la om și poate și la animale. Acțiunea lor cariantă s-ar datori acidificării zonelor dentare, ca o consecință a dezintegrării resturilor alimentare rămase în gură, pe dinți și între dinți. Unele specii din genul *Lactobacillus* sînt folosite în industria laptelui — prepararea diverselor derivate ale laptelui cum sînt chefirul, iaurtul—, precum și în producerea furajelor fermentate (*L. delbrueckii*).

Caracterul cel mai important al speciilor din acest gen este intensa producție de acid și rezistența lor în medii acide, ceea ce a făcut ca aceste bacterii să fie cunoscute și sub numele de grupa bacteriilor acidorezistente sau acidulice. Poate că termenul de bacterii acidogene este mai potrivit decît celelalte și nu dă naștere la confuzii, cum dă, în special, termenul de acidorezistente — confuzia cu bacilii din genul *Mycobacterium*.

În acest gen sînt descrise mai multe specii, fără însă ca aceste specii să fie suficient de bine individualizate.

Iată, după Peterson (Bergey, 1948), criteriile de diferențiere a speciilor din genul *Lactobacillus*.

I. Grupa speciilor homofermentative, adică a celor care fermentează glucoza și lactoza cu producție de acid lactic și numai cu o slabă producție de alți compuși de dezintegrare.

A. Subgrupa speciilor care se dezvoltă la temperaturi cuprinse între 37 și 60°C (bacterii termofile).

1. Produc acid din lactoză:
   a) Temperatura optimă 37—45°C.

b) Produc acid lactic levogir:
- *L. caucasicus*. Se izolează din chefir și brînză.
- *L. lactis*. Se găsește în lapte și în derivatele sale.

bb) Produc acid lactic inactiv sau dextrogir

c) Microaerofile.
- *L. helveticus*. Se găsește în lapte și derivatele sale
- *L. acidofilus*. Se izolează din fecalele copiilor hrăniți cu lapte. Identic probabil, cu bacilul lui Dőderlein.

cc) Anaerobe în culturi recent izolate.
- *L. lipidus*. Se găsește în intestin și în fecalele copiilor.

dd) Temperatura optimă 45—62°C; nu formează, în mod obișnuit, acid din maltoză.
- *L. bulgaricus*. Inițial izolat din iaurt. Se găsește în derivatele laptelui.
- *L. thermophilus*. Se izolează din laptele pasteurizat.

2. Nu formează acid din lactoză.
- *L. delbrueckii*. Se izolează din plantele însilozate.

B. Subgrupa speciilor care se dezvoltă la 28—32°C.

1. Produc acid din lactoză.

a) Produc acid lactic dextrogir. Preferă lactoza, zaharozei și maltozei.
- *L. casei*. Se găsește în lapte și brînză. Probabil foarte răspîndit.

aa) Produc acid lactic optic inactiv.
- *L. plantarum*. Foarte răspîndit în natură. Se izolează din plante fermentate.

2. Nu formează acid din lactoză.
- *L. leichmanii*. Se izolează din drojdie și lapte.

II. Grupa bacteriilor de tip heterofermentativ, producînd pe lîngă acid lactic și acid acetic, alcool și bioxid de carbon.

A. Temperatura optimă 28—32°C. Obișnuit fermentează arabinoza.

1. Nu fermentează rafinoza și obișnuit nu fermentează zaharoza și lactoza.
- *L. brevis*. Răspîndit mult în natură, în produse animale și vegetale.

2. Fermentează rafinoza, zaharoza și lactoza.
- *L. buchneri*. Se izolează din substanțe fermentate.
- *L. pastorianus*. Probabil mult răspîndit în natură.

B. Temperatura optimă 35—40°C sau mai mult. Obișnuit nu fermentează arabinoza.
- *L. fermenti*. Se izolează din produse animale și vegetale fermentate.

Genul *Corynebacterium* Lehmann și Neumann, 1896

Este inclusă, în acest gen, o grupă de specii bacteriene aerobe sau anaerobe, care are următoarele caractere comune:

1. forma variată, în general alungită, fără cili, spori sau capsulă; unele specii conțin granule metacromatice;
2. în general, Gram pozitive.

Genul conține specii patogene pentru om, animale și plante, precum și specii saprofite. Dintre speciile patogene pentru om și animale, cele mai importante sînt: *C. diphteriae, C. pyogenes, C. pseudotuberculosis, C. equi* etc.

Specii aerobe

Corynebacterium diphteriae (Klebs-Löffler) Lehmann et Neumann 1897

Sinonime: *Bacillus diphteriae* Klebes, 1883. *Bacterium diphteriae* Migula, 1900. *Mycobacterium diphteriae* (Klebs-Löffler) Krasilnikov, 1941.

Numele comun: bacilul difteriei

Bacilul a fost văzut de Klebs, în 1883, și izolat de Löffler, în 1884.

Morfologie. Germenul este polimorf, se prezintă ca un bastonaș a cărui lungime variază de la 1 la 6 microni, iar lățimea de la 0,3 la 0,8 microni. Poate prezenta ramificații laterale.

Gram pozitiv; în culturi el este Gram labil. Se colorează cu albastrul de metilen. Celula nu prinde uniform colorantul, în special albastrul de metilen alcalin, și, în masa sa, se găsesc formații granulare mai intens colorate ca restul celulei. Aceste granule variază ca număr de la 1 la 6; se colorează metacromatic și au fost descrise de Babeș. Acest mod neuniform de colorație nu este caracteristic numai bacilului difteric, ci se întîlnește frecvent și la bacilii pseudodifterici; pentru acest motiv, în diagnosticul microscopic al difteriei acest criteriu citologic nu își mai păstrează importanța care i se acorda la început.

Bacilul este imobil, nesporulat și necapsulat.

Medii și caractere de cultură. Se cultivă pe medii variate, bulion, agar, gelatină, ser coagulat etc. Temperatura optimă 34—36°C; pH-ul optim = 7,8—8. Aerob.

Mediul recomandat și folosit, pentru izolare, este serul coagulat în amestec cu bulion glucozat (3 părți ser de bou + 1 parte bulion glucozat 1%; coagulare în poziție înclinată). Pe acest mediu, bacilul formează colonii mici, după o incubație de 12—24 de ore.

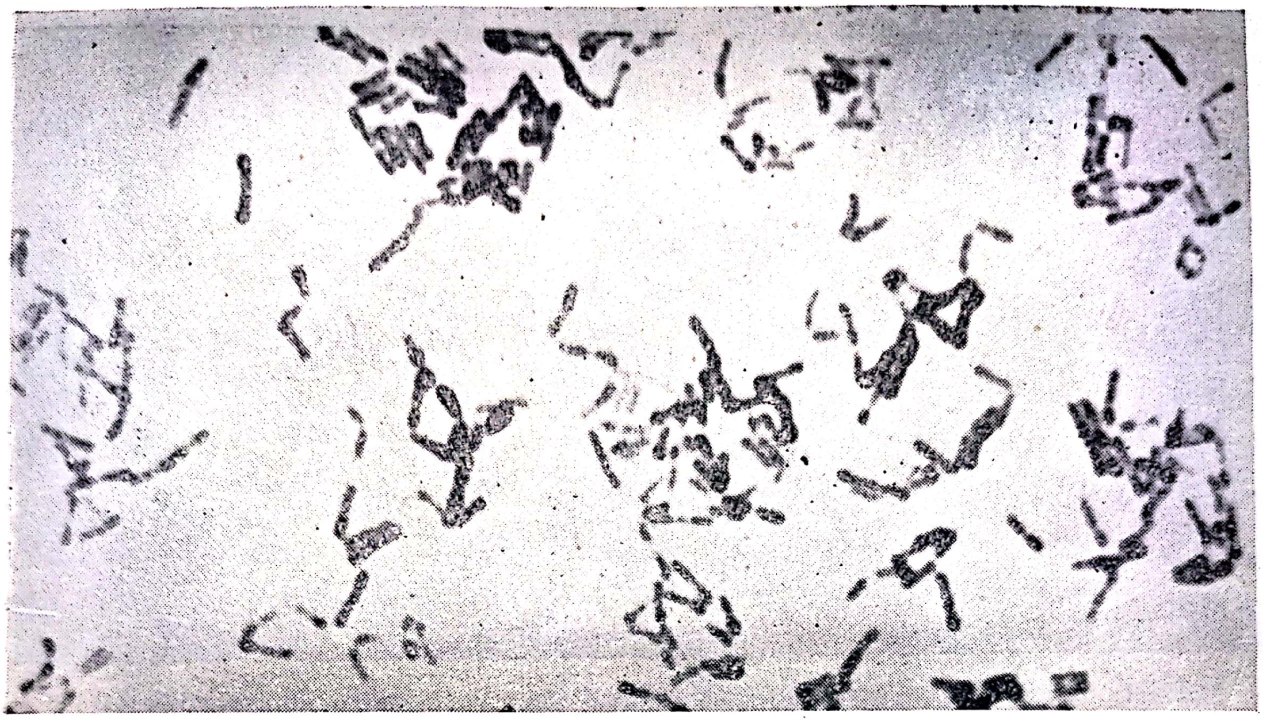


Fig. 71 — Corynebacterium diphteriae; × 1 200 (din Jordan-Burrows, 1950)
Frotiu din cultură de pe agar cu sînge. Coloraţie: albastru de metilen

S-au preparat însă și alte medii de izolare care dau rezultate mai bune, cum sînt mediile cu telurit (ser, glicerină, telurit). Aceste medii permit identificarea mai rapidă a coloniilor deși dezvoltarea lor este mai lentă ca pe serul coagulat.

Bacilul disociază în forme S, R și mixte (RS). Formele S tulbură bulionul, cele R formează depozit, iar cele RS membrană. Pe agar, aspectul coloniilor variază în raport cu tipul de disociere.

Proprietăţi biochimice. Toate tulpinile fermentează, cu producţie de acid, fără gaze, dextrina și levoluza; unele tulpini sînt active și faţă de glicerină, maltoză, galactoză, amidon, glicogen și dextrină.

Bacilul nu lichefiază gelatina, nu produce indol, reduce nitraţii în nitriţi.

Variabilitate. S-au izolat și descris mai multe tipuri de bacili (tip *gravis* — nehemolitic și foarte patogen, tip *mitis* — hemolitic și mai puţin patogen, tip *intermedius* — nehemolitic și patogen).

Rezistenţă. Se conservă de la cîteva săptămîni pînă la cîteva luni, pe diverse medii.

Patogenitate. Germenul este patogen pentru om — copii — la care produce difteria, care se caracterizează prin apariţia unor false membrane pe mucoasa laringo-faringiană. Leziunea locală este însoţită de tulburări generale grave. Germenul este localizat în aceste membrane, unde se multiplică și produce o toxină care difuzează în organism, provocînd intoxicaţia difterică caracteristică. Puterea invazivă a bacilului difteric este redusă, și numai foarte rar poate invada organismul uman.

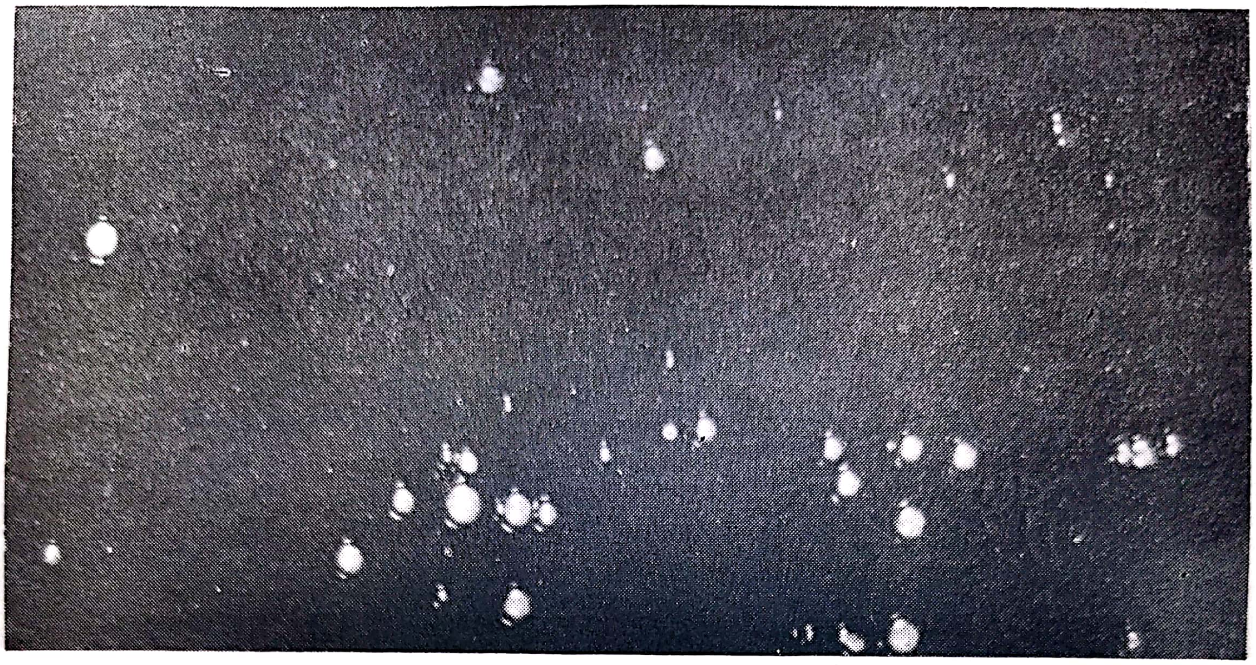


Fig. 72 — Colonii de *Corynebacterium diphteriae*; × 2
(din Jordan-Burrows, 1950)
Colonii pe agar cu sînge

Toxina, elementul esențial al patogenității bacilului difteric, a fost identificată în 1888 de Roux și Yersin, și este prima toxină bacteriană descoperită. Este patogenă pentru cobai, porumbei, cîini și pisici. Se comportă ca o exotoxină tipică. Sub acțiunea formolului și temperaturii se transformă în anatoxină, care își păstrează capacitatea de a produce anticorpi cînd este inoculată la om sau animale. Toxina a fost în amănunt cercetată în ceea ce privește compoziția sa chimică și relațiile sale cu anticorpii respectivi.

Profilaxia difteriei se face prin vaccinarea cu anatoxină. Serul antitoxic, preparat de Behring în 1890, dă rezultate foarte bune în cazurile de difterie declarată.

Corynebacterium pyogenes (Glage) Eberson, 1918.

Sinonime: *Bact. pyogenes suis* Lehmann și Neumann, 1927. *Bact. pyogenes bovis* Kühnemann, 1903.

Numele comun: bacilul lui Grips sau bacilul abceselor multiple la porc sau piobacilul. Descris pentru prima oară de Lucet (Ann. Inst. Pasteur 1893, 7, p. 327).

Morfologie. Germen polimorf, măsurînd 1,5—3 microni lungime și 0,5—0,7 microni lățime. In frotiurile din organe, prin forma și dimensiunile sale, se apropie de bacilul rujetului.

Gram pozitiv, nesporulat, neciliat, necapsulat.

Medii și caractere de cultură. Germenul este aerob facultativ. Temperatura optimă 37°C. Limite de creștere 20—40°C. Nu se dezvoltă pe mediile obișnuite. Crește pe mediile cu ser. În bulion cu ser produce o cultură aglutinată, iar pe agar cu ser, după o incubație de 36—48 de ore, formează colonii mici, albăstrui. Culturi abundente se obțin în mediul cu cartof folosit pentru cultivarea brucelelor și la care se adaugă ser. Se izolează cu greutate din materialul patologic. Mediul recomandat pentru izolare este serul coagulat sau agarul cu sînge.

Proprietăți biochimice. Fermentează cu producție de acid și fără producție de gaze, glucoza, lactoza, zaharoza și xiloza. Capacitatea zaharolitică variază în raport cu tulpina. Hajsig, examinînd 26 de tulpini, constată că 50% fermentau arabinoza și 63% zaharoza și inosita. Pentru a pune în evidență proprietățile fermentative culturile se fac în bulion-ser, plus hidrocarbonatul respectiv. Germenul este proteolitic; el lichefiază, cu regularitate, gelatina și serul coagulat.

Nu reduce nitrații în nitriți.

Nu produce indol.

Slab hemolitic.

Rezistență. Germenul este fragil. Se distruge în cîteva minute la 60°C. În culturi, se conservă cel puțin 2 luni.

Patogenitate. Germenul provoacă în condiții naturale afecțiuni cu caracter sporadic la diverse specii animale: porc, bou, oaie, capră. Procesul purulent poate fi localizat în țesutul hipodermic, în articulații, pulmon, mamelă etc. La bovidee și porci se întîlnesc colecții purulente situate în țesutul conjunctiv subcutan. Apariția procesului este legată, în regulă generală, de un traumatism al tegumentelor și mucoaselor. La porci, se întîlnesc în plus pleurite și pneumonii necrotice, în care bacilul se poate găsi în mare număr, de regulă asociat cu alte bacterii, în special cu pasteurele.

La tineretul ovin și caprin germenul poate produce artrite. Benito Trujillo (1954) a izolat dintr-un abces de la o oaie, care prezenta focare necrotice multiple, o tulpină care diferă de tulpinile de *C. pyogenes* cunoscute, prin aceea că producea o exotoxină foarte activă și pe care autorul o considera o specie nouă, numind-o *C. toxinogenes*. La om, au fost semnalate rare cazuri de infecție cu acest germen. Moser (1952), de exemplu, izolează bacilul dintr-o fistulă intestinală de la om, unde el se găsea în asociație cu alți germeni.

În condiții experimentale, bacilul este puțin patogen. Porcul, după relatările lui Andreev, este receptiv; germenul provoacă după calea de inoculare, sindroame diverse: gastroenterite (administrare bucală), peritonite (administrare peritoneală), pleurite, pneumonii și abcese pulmonare (administrare intrapulmonară) etc.

Iepurele și șoarecele reacționează la inoculări masive de cultură. La iepure, de exemplu, germenul poate produce abcese hipodermice, peritonite, piemii, atrite supurative etc. Germenul izolat de Moser de la om era patogen pentru cobai.

Corynebacterium renale (Migula) Ernst, 1905.

Sinonime: *Bacilllus renalis bovis* Bollinger, 1890, *Bacterium renale* Migula, 1900. *Corynebacterium renalis bovis* Ernst, 1905.
Numele obişnuit: bacilul pielonefritei bovideelor.

Morfologie. Germen polimorf, prezentîndu-se, în general, sub forma de bastonaşe uşor încurbate. Măsoară, în medie 2—3 microni lungime şi 0,7 microni lăţime. Nu sporulează, nu se încapsulează, nu are cili. Gram pozitiv.

Medii şi caractere de cultură. Se cultivă pe medii cu ser, uşor alcaline (pH = 7,2—7,6), dînd în bulion o cultură granulată şi sedimentată, iar pe agar colonii mici, albe, uşor cremoase. Se dezvoltă în aerobioză, la temperatura de 37°C. Limite de dezvoltare 20—40°C.

Proprietăţi biochimice. Fermentează constant lactoza şi trehaloza şi inconstant levuloza, zaharoza, maltoza şi manoza. Coagulează laptele. Nu produce indol şi nu reduce nitraţii în nitriţi. Nu lichefiază gelatina sau serul coagulat.

Rezistenţă. Rezistă în culturi, la gheţar, 1 lună sau mai mult.

Ecologie. Germenul a fost izolat din urina şi din căile urinare ale bovideelor sănătoase. Pare să fie deci un epifit al căilor urinare.

Patogenitate. *Infecţia experimentală.* Germenul este apatogen pentru şoarece, cobai, porumbel. La şoarece, chiar inoculările intracerebrale sînt inofensive. Pe cale intravenoasă, după Lowell şi Cotchin (1952) cantităţile mari de cultură produc leziuni renale, situate atît în zona medulară, cît şi în cea corticală, ceea ce ar deosebi această specie de *C. pyogenes* sau *C. bovis,* care produc leziuni în zona medulară a rinichilor. La iepure, inoculările intravenoase provoacă de asemenea leziuni renale. Inocularea în căile urinare reproduce, la bovine, infecţia naturală.

Infecţia naturală. Germenul, în condiţii naturale, produce pielonefrita bovideelor (*Pyelonephritis bacteritica*), entitate morbidă bine definită clinic şi anatomo-patologic. Clinic, boala evoluează de regulă cronic şi se manifestă prin pierderea poftei de mîncare şi slăbirea animalului, dureri în flanc, la presiune, urină tulbure, purulentă, hemoragică, cu albumină şi sediment bogat. Anatomo-patologic, boala se caracterizează printr-o hipertrofie renală, îngroşarea capsulei şi prezenţa sub capsulă şi în parenchimul renal a unor colecţii purulente, multiple, de mărimi variabile ; în bazinet se găseşte o masă purulentă, floconoasă ; canalele urinare şi vezica urinară sînt mult îngroşate, ceea ce se poate constata şi prin exploraţie rectală. În masa purulentă se găsesc cantităţi imense de bacili Gram pozitivi de tipul *Corynebacterium,* uneori în asociaţie cu alţi germeni : stafilococi, colibacili, proteus etc. Infecţia naturală cu *C. renale* pare că, în mod obişnuit se face pe cale hematogenă şi nu pe cale urinară, această din urmă cale nu poate fi totuşi exclusă.

Diagnosticul infecţiei se face mai rar în timpul vieţii, boala fiind de obicei descoperită la abator, şi, în acest caz, prin examenul macroscopic al leziunilor şi examenul bacteriologic al puroiului se poate preciza natura bolii. Germenul se poate izola din materialul purulent prin însămînţări directe. În cazul cînd materialul purulent este infectat şi cu alţi germeni, în afară de *C. renale*, se procedează în felul următor: puroiul diluat cu bulion se injectează intraperitoneal la 3—4 şoareci, care se sacrifică apoi la intervale diferite, de la 1—4 ore, făcîndu-se culturi din cavitatea peritoneală şi din cord pe medii cu ser (bulion şi agar).

Tratament. Se recomandă doze masive şi repetate, timp de 8—10 zile, de penicilină, însoţite de administrarea pe cale bucală, a difosfatului de sodiu (100—150 g zilnic), pentru neutralizarea urinei.

Corynebacterium pseudotuberculosis (Buchanan) Eberson, 1918

Sinonime: *Corynebacterium ovis. Bacillus pseudotuberculosis, Corynebacterium preisz-nocardi.*

Numele obişnuit: bacilul lui Preisz-Nocard sau bacilul pseudotuberculozei oilor. Izolat şi cercetat, pentru prima oară, de Nocard (1885) şi de Preisz (1891).

Morfologie. Germen polimorf măsurînd 1—3 microni lungime şi 0,5—0,6 microni lăţime. Este neciliat, nesporulat şi necapsulat.

Gram pozitiv.

Medii şi caractere de cultură. Se dezvoltă în aerobioză (aerob facultativ), pe medii cu ser, pe ser coagulat şi chiar pe medii simple.

În bulion dă o cultură iniţial uniform răspîndită, dar care se sedimentează în cîteva zile, mediul rămînînd limpede.

Pe agar formează colonii mici, uscate sau cremoase.

Pe cartof dezvoltă o cultură uscată, pulverulentă.

Proprietăţi biochimice. Fermentează glucoza, fructoza, galactoza, manoza, zaharoza, lactoza, maltoza şi dextrina, cu producţie de acid. Inactiv faţă de alte substanţe hidrocarbonate.

Nu reduce nitraţii în nitriţi.

Patogenitate. Germenul, în condiţii naturale, a fost întîlnit şi considerat ca agent al limfadeniei oilor şi al limfangitei ulceroase a cailor.

Infecţia la oaie, cunocută sub numele de pseudotuberculoza, adenită supurativă, limfadenită supurativă cazeoasă, maladia cazeoasă, a fost identificată ca entitate morbidă, după cît se pare, întîi de Preisz (1891), deşi alţi autori ca Wiliams, Dieckerhoff au întîlnit-o respectiv în Scoţia şi Germania şi au descris-o sumar înaintea lui Preisz. După aceste prime indicaţii boala a fost semnalată în mai toate ţările lumii. În ţara noastră, deşi probabil există de multă vreme, ea nu a fost descrisă decît în 1956 de Negulescu şi Elefterescu. Autorii identifică un caz, izolează şi cercetează agentul etiologic. Frecvenţa infecţiei la noi în ţară este redusă şi pierderile economice produse de această boală sînt mici. Pseudotuberculoza oii se caracterizează printr-o inflamaţie purulentă a ganglionilor limfatici din diverse regiuni; de asemenea se întîlnesc frecvent în această infecţie focare cazeoase, localizate în pulmon şi ganglionii traheobronhici, mai rar în ficat şi rinichi. Nodulii au mărimi care variază de la un bob de mazăre la o nucă. Ei sînt separaţi de ţesutul din jur printr-un înveliş fibros şi au un conţinut cazeos, uşor verzui. Leziunile nodulare, situate la suprafaţa pulmonului, pot provoca inflamaţia pleurei adiacente. Nodulii se pot deschide în bronhii, formîndu-se astfel caverne. În cazul descris de Negulescu şi Elefterescu, infecţia era localizată în regiunea maxilarului inferior drept, la nivelul curburii mandibulare, unde se găseau mai mulţi noduli ale căror dimensiuni variau de la cele ale unui bob de mazăre pînă la cele ale unei nuci. În jurul ganglionilor submaxilari există o uşoară inflamaţie a ţesuturilor periganglionare. Starea generală a animalului era puţin afectată.

Infecţia la cal este cunoscută sub numele de limfangită ulceroasă şi evoluează ca o limfangită localizată frecvent la membrele posterioare şi caracterizată prin prezenţa unor abcese şi plăci ulceroase, situate pe piele şi pe traiectul vaselor limfatice. Boala apare la animalele rău îngrijite, evoluează cronic şi poate duce la elefantiazis. Tratamentul este dificil. Maddy (1953) găseşte la o iapă sacrificată în abator leziuni cazeoase multiple în ganglionii limfatici viscerali şi în organele din cavitatea toracică şi abdominală. Animalul nu prezintă localizări externe.

Experimental, germenul inoculat pe cale subcutană produce un abces cald la cobai, oaie, cal, măgar. Abcesul se deschide în 5—10 zile, animalele de obicei vindecîndu-se. Uneori cobaiul moare cu leziuni cazeoase locale, ganglionare şi în organele interne. Germenul, inoculat pe cale intraperitoneală, la cobaiul mascul, produce peritonită şi orhită asemănătoare cu aceea produsă de bacilul morvei. Animalul moare în 5—15 zile (Panisset, 1910).

Iepurele este puţin receptiv. Şoarecele, injectat pe cale subcutană, este omorît de unele tulpini în 24—48 de ore, cu germenul prezent în sînge.

Corynebacterium equi Magnusson, 1923

Identificat ca specie aparte de Magnusson (1923—1924).

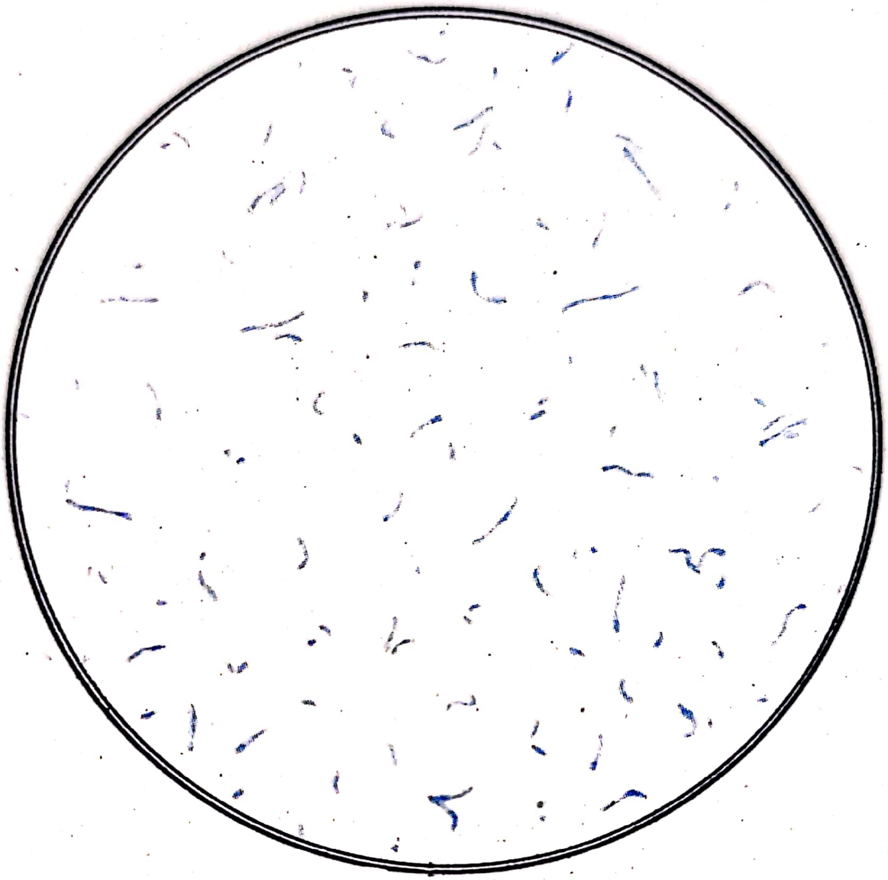
Morfologie. Germen polimorf, prezentînd forme cocoide şi bacilare. Formele bacilare pot fi drepte sau încurbate. Aciliat, asporulat, acapsulat. Este Gram pozitiv.

Medii şi caractere de cultură. Germen aerob. Temperatura optimă 25—37°C. Se dezvoltă pe mediile obişnuite, tulburînd puternic bulionul şi producînd pe agar de obicei, colonii mucoase, difluente. Culturi abundente se obţin pe cartof şi gelatină.

Proprietăţi biochimice. Nu atacă substanţele hidrocarbonate. Nu produce indol şi nu topeşte gelatina. Poate produce hidrogen sulfurat. Nehemolitic sau slab hemolitic faţă de globulele roşii de cal.

Rezistenţă. Se conservă timp îndelungat, 1 an sau mai mult, pe mediile de cultură lichide sau solide. Rezistenţa la căldură şi antiseptice este, în linii generale, aceea a tuturor bacteriilor nesporulate.

Patogenitate. Germenul provoacă diverse afecţiuni la mînjii debilitaţi prin acţiunea factorilor de mediu. Se izolează frecvent din focarele de bronhopneumonie ale mînjilor (Jivoin şi col. 1956). Leziunile produse de acest germen sînt localizate în pulmon şi constau din focare purulente. Pa-



Corynebacterium muris
Coloraţie: Gram (desen: *Cerni*)

togenitatea germenului pentru alte specii animale (porc, bou) nu este cu precizie stabilită.

În condiţii experimentale, inoculat pe cale intratraheală la cai, produce bronhopneumonii asemănătoare celor întîlnite în infecţia naturală.

La cobai, culturile administrate pe cale intraperitoneală produc uneori o peritonită purulentă mortală. Nepatogen pentru alte animale de experienţă.

Corynebacterium kutscheri izolată de Kutscher în 1894. *Corynebacterium murisepticum* sau *C. pseudotuberculosis murisepticum*

Aceste două specii se izolează de la şoareci, şi anume din focare purulente pulmonare *(C. kutscheri)* sau din septicemii *(C. murisepticum)*. Cele două specii se aseamănă morfologic şi cultural, ca şi cu ceilalţi germeni din genul *Corynebacterium*. Se dezvoltă în bulion, în care produc constant o cultură aglutinată. Pe agar, unele tulpini formează colonii mici, albăstrui, alte tulpini, colonii ceva mai mari, bombate, albe-cremoase. Patogeni în condiţii experimentale pentru şoarece la care produc leziuni asemănătoare celor întîlnite în infecţia naturală. Infecţia experimentală se poate obţine prin inoculări parenterale, administrări intranazale sau chiar per os.

Specii anaerobe

Speciile anaerobe se caracterizează prin lipsa catalazei şi prin incapacitatea lor de a se dezvolta la suprafaţa mediilor solide, în momentul izolării din materialul patologic. Au fost izolate din diverse procese patologice de la om sau animale. Astfel, *C. parvum* a fost izolată de Mayer (1926) din cistite purulente, infecţii anexiale şi septicemii de la om, *C. renale cuniculi*, (Manteufel şi Herzberg, 1930) din rinichiul iepurelui normal, *C. diphteroides* din intestinul şobolanului alb (Jungano, 1909), din osteite fibroase, artrite purulente, septicemii, rectocolite hemoragice etc. (Prévot şi Tardieux, 1953), *C. avidum* din intestinul uman normal (Eggerth, 1935), precum şi din septicemii survenite în cursul limfogranulomatozelor maligne, din endocardite maligne, din conserve etc. (Prévot şi Tardieux, 1953), *C. parvum* din septicemii, eritem nodos, abces cerebral, meningită purulentă umană (Prévot şi Tardieux, 1953), *C. granulosum* din artrite purulente, endocardite maligne umane şi din intestinul şoarecelui alb etc.

Prévot şi Tardieux (1953), examinînd 36 de tulpini aparţinînd diverselor specii anaerobe ale genului *Corynebacterium*, din care 33 izolate de la om şi 3 de la animale, constată că germenii prezintă o afinitate deosebită pentru sistemul limfatic şi seroase, şi că pot produce la om infecţii de o deosebită gravitate. Tulpinile cercetate de autori proveneau:

şapte din septicemii
şase din endocardite maligne
patru din adenite supurate
trei din pseudoactinomicoză

două din artrite supurative
zece din procese piogene diverse
una din eritem nodos
una din acnee.

Diferenţele între aceste diverse specii nu sînt încă precis stabilite şi nu s-ar putea încă spune dacă sînt sau nu specii distincte. Prévot şi Coudurier (1949) dau, pentru patru specii *(C. liquefaciens,* specie saprofită, *C. diphteroides, C. avidum* şi *C. parvum)* caractere distinctive. Date similare se pot găsi în Prévot (1948) şi în Hauduroy şi colaboratorii (1953).

BIBLIOGRAFIE

BENITO-TRUJILLO M. — O nouă specie microbienă patogenă pentru oaie : C. toxinogenus. *Ann. Inst. Pasteur,* 1954, 87, p. 111.

HAJSIG M. — Studiul agentului cauzal al piobacilozei (C. pyogenes) şi al importanţei sale pentru cîteva animale domestice. *Veter. Arhiv (Zagreb),* 1953, 23, p. 124.

KUTSCHER — *Z. Hyg. u. Infektionskr.* 1894, 18, p. 327.

HAUDUROY P. şi col. — Dictionnaire des bactéries patogènes. *Masson,* Paris, 1953.

JIVOIN P. şi col. — Bronhopneumonia enzootică a mînjilor. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1956, 6, p. 133

LOWELL R. şi COTCHIN J. E. — *J. Comp. Path.,* 1952, 62, p. 245.

MAGNUSSON H. — *Arch. Wiss. Prakt. Tierheilk.,* 1923—1924, 50, p. 22.

MAGNUSSON H. — Piemia la mînji produsă C. equi. *Vet. Rec.* 1938, 44, p. 1459.

MANTEUFEL şi HERZBERG — *Zbl. f. Bakt. O.,* 1930, 116, p. 306.

MARIAN I. — Cauzele care stau la baza infecţiilor piobacilare externe la porci. *Creşterea animalelor,* 1950, 2, p. 58.

MADDY K. T. — Infecţia cu Corynebacterium pseudotuberculosis la cal. *J. Am Veter. Med. Ass.,* 1953, 122, p. 387.

NEGULESCU AL. şi ELEFTERESCU A. — Un caz de pseudotuberculoză la oaie. *Probleme veterinare,* 1956, nr. 2, p. 35.

PANISSET L. — Studiul infecţiei cobaiului cu microbul lui Preisz-Nocard. *Ann. Inst. Pasteur,* 1910, 24, p. 519.

PREISZ H. — Cercetări comparate asupra pseudotuberculozei bacilare şi a unei specii noi de bacili pseudotuberculoşi. *Ann. Inst. Pasteur,* 1894, 8, p. 231.

PRÉVOT R. A. şi TARDIEUX P. — Cercetări asupra puterii patogene a speciilor anaerobe stricte din genul Corynebacterium. *Ann. Inst. Pasteur,* 1953, 84, p. 879.

PRÉVOT R. A. şi COUDURIER J. — Cercetări asupra a 4 specii anaerobe stricte din genul Corynebacterium. *Ann. Inst. Pasteur,* 1949, 76, p. 232.

PRÉVOT R. A. — Manuel de Classification des Anaérobies. *Masson,* Paris, 1948.

Genul *Mycobacterium* Lehmann şi Neumann, 1896

Genul Mycobacterium cuprinde speciile bacteriene acidorezistente. Toate speciile genului rezistă la concentraţii mari de acizi, 15—40% acid sulfuric (Löwenstein, 1924) şi aşa cum a arătat Ehrlich, 1882, corpii microbieni impregnaţi la cald cu soluţii concentrate de fucsină sau alți coloranți nu se decolorează sub acțiunea acizilor sau a alcoolului etilic. Acest mod de comportare este folosit, de altfel, în practică, pentru a distinge bacilii neacido și nealcoolorezistenți de cei acido și alcoolorezistenți. Termenul de acidorezistent a fost folosit pentru a desemna această grupă de bacili, în urma constatării făcute de Ehrlich că bacilii turberculozei o dată colorați cu fucsină, nu se mai decolorează sub acțiunea soluțiilor acide. Termenul nu se referă deci la rezistența bacililor în soluții acide. De altfel, această din urmă însușire a fost descoperită mai tîrziu și ea este prezentă și la alte bacterii care nu formează cu fucsina complexe insolubile în acizi, deci neacidorezistente cum sînt speciile din genul *Lactobacillus*, precum și în special cele care oxidează sulful și compușii săi cu producție de acid sulfuric. *Thiobacillus denitrificans*, de exemplu, se dezvoltă la $pH = 3$ în condiții optime, putînd suporta însă și un $pH = 0,6$.

Dintre bacilii acidorezistenți, speciile patogene cele mai importante sînt *M. tuberculosis* cu cele trei variante ale sale, și anume : *varietas bovis*, *varietas hominis* și *varietas avium* (aceasta din urmă este socotită de unii sistematicieni (vezi Bergey, ca o specie aparte și numită *M. avium*), *M. paratuberculosis*, *M. leprae* și *M. lepraemurim* (bacilul lui Stefanski). *M. muris* Wells, 1937, este socotită tot ca o specie patogenă de bacili acidorezistenți, deși el are relații strînse cu bacilul tuberculozei mamiferelor și pare a fi mai curînd o varietate a acestora, și anume o variantă a tipului bovin.

Pe lîngă specii patogene există, în cadrul genului, și numeroase specii saprofite, ale căror inventar și descriere au fost făcute în special de Hauduroy (1946)

Mycobacterium turberculosis (Koch) Lehmann și Neumann, 1896

Sinonime : *Bacillus tuberculosis* Flügge, 1886. *Sclerothrix kochii* Mecinikov, 1888. *Bacterium tuberculosis* Migula, 1895.
Numele comun : bacilul tuberculozei. Bacilul mai este desemnat și cu litrele T.B.C. sau B.K. (bacilul Koch).

Boala produsă de acest germen, la om în special sub forma ei pulmonară (ftizia), este cunoscută din cele mai vechi timpuri, după cum demonstrează identificarea leziunilor tuberculoase la mumiile egiptene vechi de cîteva mii de ani. In plus, ftizia o găsim descrisă și în cele mai vechi documente medicale din antichitate cum sînt scrierile lui Hippocrate (460—377 î.e.n.), Celsus (30 î.e.n. — 50) Aretaeus care a trăit între anii (30 și 90), Galenos de Pergamon (129—201) și alții (Bochalli, 1940).

Descrierea corectă a leziunilor găsite la autopsierea persoanelor tuberculoase a permis mai tîrziu lui Reid (1785), Baillie (1793) și în special lui Laënnec (1781—1826) să demonstreze că ftizia (localizarea pulmonară) este numai una din manifestările infecției tuberculoase, ea putînd avea și alte multiple localizări. Indiferent însă de organul în care se găsește, leziunea tuberculoasă, afirmă Laënnec, este specifică : nodulul tuberculos caracterizează, din punct de vedere anatomo-potologic, infecția tuberculoasă.

Transmisibilitatea și contagiozitatea tuberculozei, întrevăzută de Laënnec, este demonstrată de Villemin, în 1865, prin inoculări la animale. Villemin reușește, într-adevăr, să transmită tuberculoza de la om la iepure, de la bou la iepure și de la iepure la iepure, punînd astfel în evidență prezența agentului infecțios în diversele tipuri de leziuni tuberculoase — nodulare, infiltrative sau cazeoase — și demonstrînd, în mod definitiv capacitatea agentului ei etiologic, necunoscut la acea dată, de a produce diverse tipuri de leziuni. Aceste cercetări dovedesc deci transmisibilitatea și unitatea infecției turberculoase.

Agentul etiologic al tuberculozei a fost descoperit de Robert Koch, care, într-o comunicare făcută la 24 martie 1882, la Societatea de fiziologie din Berlin, arată că în leziunile tuberculoase se găsește un bacil care poate fi cultivat și colorat.

Ehrlich, la 1 mai 1882, arată că bacilii tuberculozei, spre deosebire de alte bacterii, rezistă la acțiunea decolorantă a acidului azotic diluat $^1/_3$, descoperind astfel acidorezistența bacilului.

Ulterior, Koch examinează pe lîngă produse tuberculoase umane conținutul leziunilor tuberculoase de la bovine sau păsări, punînd în evidență, în toate aceste leziuni, prezența unor germeni asemănători celor din leziunile umane. Inițial, bacilii tuberculozei umane au fost considerați identici cu cei izolați din tuberculoza diferitelor specii de animale. În 1889—1890 Rivolta și Maffuci arată însă că bacilul tuberculozei aviare se deosebește, printr-o serie de caractere, de bacilul tuberculozei umane și bovine, iar în 1901, Koch și Schütz, la congresul de tuberculoză de la Londra, sprijinindu-se pe cercetări proprii, precum și pe cele comunicate de Smith (1898), stabilesc diferențele între bacilii umani și bovini. Kossel, Weber și Heuss (1905) descoperă patogenitatea diferită a bacililor umani și bovini pentru iepure și, folosind testul patogenității pentru iepure, separă definitiv tipul uman de tipul bovin.

În urma acestor cercetări s-au admis existența a trei tipuri de bacili (uman, bovin și aviar), considerați a avea fiecare o strictă specificitate patogenică. Koch și Schütz au susținut, în acest sens, la congresul din 1901, că bacilii bovini nu sînt patogeni pentru om. Această afirmație a fost dezmințită de o serie de observații și date experimentale, astfel că la Congresul Internațional de Medicină Veterinară de la Budapesta, din 1905, s-a adoptat, în mod definitiv, punctul de vedere după care bacilii bovini sînt patogeni pentru om și că bovinele tuberculoase constituie un pericol pentru sănătatea publică [1].

---

[1] Bacilul lui Koch a constituit un subiect de inspirație și pentru poeți. Topîrceanu (Opere, vol. I, p. 359, „Biblioteca pentru toți" 1955) i-a închinat o odă din care cităm următoarele patru versuri.

După savanți și medici ca doctorul Argon,
Bacilul se prezintă sub formă de baston...
Dar, bolnavii, săracii, spun doctorului Ciucă
Că lor li se prezintă sub formă de măciucă!

Caractere morfologice. Bacilul tuberculozei se prezintă ca un bastonaş subţire, fin, drept sau puţin încurbat; grosimea bacilului variază de la 0,2 la 0,3 microni, iar lungimea de la 0,5 la 5 microni. Bacilii sînt polimorfi, dar polimorfismul este de regulă mai accentuat în culturi ca în ţesuturi. În special în cavernele pulmonare de la om, se întîlnesc uneori forme granulare sau în măciucă; aceste din urmă forme se aseamănă cu cele găsite la *Actinomyces bovis,* de exemplu, şi au fost numite din această cauză forme actinofite (Boquet, 1935). Formele bacilare ar putea constitui, după unii autori, ramificaţii laterale (Babeş, 1883, Mecinikov, 1888), ceea ce de asemenea apropie bacilul tuberculozei de actinomicete. În interiorul formelor bacilare se pot pune în evidenţă, prin metode speciale de coloraţie, 1—6 granulaţii; semnificaţia acestor formaţii nu este încă cunoscută; Koch le consideră spori, deşi nu rezistă la căldură mai mult ca formele bacilare obişnuite. Şi alţi cercetători au apropiat aceste formaţii de spori, bazîndu-se, în special pe observaţia că în culturile vechi numai aceste granulaţii ar fi viabile şi transplantabile. Ele s-ar conserva deci mai mult decît formele bacilare obişnuite şi privite din acest punct de vedere ele ar putea fi comparate cu formele granulare întîlnite la specia *Capromyces agalactiae* (agentul agalaxiei contagioase a oilor). Rezistenţa lor în culturi şi capacitatea lor de a genera forme bacilare (Knoll, 1910) nu este încă definitiv demonstrată. Aceste formaţii ar reprezenta, după unii autori, forma filtrabilă a bacilului, după alţii (Fontès, 1926) substanţa nucleară a celulei.

Problema existenţei formelor filtrabile la bacilul tuberculozei a preocupat numeroşi cercetători. Fontès, în 1910, face primele cercetări în această direcţie. Filtratul prin Berkefeld, al materialului cazeos provenit din leziunile tuberculoase, inoculat la cobai, produce adenopatie şi în ganglionii inflamaţi autorul constată prezenţa unor corpusculi cromofili pe care îi consideră identici cu granulaţiile lui Much. Vaudremer (1923), Calmette şi colaboratorii (1928), precum şi Valtis (1932) au făcut întinse investigaţii în această direcţie; cobaii inoculaţi de aceşti cercetători cu filtrate din organe tuberculoase sau din culturi de bacili tuberculoşi pot într-adevăr prezenta în organe elemente acidorezistente. Acestea însă nu par a aparţine bacilului tuberculozei, ci unor specii saprofite. Intr-adevăr, Cooper şi Petroff, precum şi Saenz cultivă asemenea forme şi de la cobaii care nu au fost niciodată infectaţi cu filtrate tuberculoase. In aceste condiţii problema formelor filtrabile ale bacilului tuberculozei este încă deschisă, şi după datele clinice şi epidemiologice, aceste forme chiar dacă există ceea ce este foarte îndoielnic, par fără importanţă în patogenia tuberculozei.

Diferenţele de ordin morfologic, dintre cele trei tipuri de bacili tuberculoşi, patogeni pentru animalele cu sînge cald, sînt minime, şi nu permit un diagnostic diferenţial. Bacilii de tip uman sînt în general mai lungi (1—3 microni) şi mai subţiri ca cei bovini şi, de obicei, uşor incurbaţi; cei de tip bovin sînt mai groşi şi mai scurţi, — în medie de aproximativ 1 micron — ca bacilii umani; bacilii aviari sînt foarte fini şi polimorfi. Morfologia bacililor tuberculozei poate fi bine studiată în microculturi (Kocemasova şi col., 1956).

Modul de grupare în frotiuri permite, după unii autori, diferenţierea tipului uman de cel bovin. Primul, în frotiurile făcute de pe mediul Löwenstein, este grupat sub formă de franjuri sau mustăţi, aspect care nu se întîlneşte în frotiurile care conţin bacili de tip bovin, Bacilul tuberculozei nu formează spori care să prezinte o termorezistență mai mare ca formele vegetative.

De asemenea, toate cele trei tipuri, precum și bacilii acidorezistenți saprofiți sînt aciliați și deci imobili. O capsulă nu poate fi pusă în evidență, în mod curent, nici la bacilii tuberculozei și nici la saprofiții acidorezistenți. Totuși, unii autori (Nocard și Roux, Mecinikov) afirmă că în anumite condiții bacilul tuberculozei ar fi incapsulat.

Bacilul, după o prealabilă colorare, poate fi examinat la microscopul obișnuit de lumină, dar și la microscopul fluorescent sau cu contrast de fază. Acest din urmă procedeu este folosit, în ultimul timp, pentru a examina frotiurile făcute de la bolnavi (oameni, bovine) din diverse materiale patologice și în care nu totdeauna bacilii sînt numeroși. Poetschke și colaboratorii (1954), precum și Schliesser (1955) și alții afirmă că folosind examinarea frotiurilor la microscopul cu contrast de fază au reușit să descopere bacili cu frotiurile în care cu ajutorul microscopului obișnuit nu au găsit. Metoda ar mări deci valoarea de diagnostic al examenului microscopic direct. În vederea examenului la microscopul cu contrast de fază, frotiurile se colorează numai cu fucsină, bacilii acidorezistenți apărînd în cîmpul microscopic de culoare albastră închis, iar cei neacidorezistenți de culoare cenușie. Intensificarea contrastului între elementele acido- și neacidorezistente se poate realiza printr-un filtru verde. Microscopia fluorescentă, după Haebler (1954), ar da și ea mai bune rezultate ca microscopia obșinuită în punerea în evidență a bacililor în produse paucibacilare.

Afinități tinctoriale. Bacilii tuberculozei sînt pătrunși cu greutate de soluțiile colorante: Fucsina Ziehl îl colorează în cîteva ore la rece și în 3—5 minute la cald; bacilii, o dată colorați, nu se mai decolorează însă decît cu greutate. Soluțiile acide nu-i decolorează decît după cel puțin 2 minute de contact, iar alcoolul după mai mult de 1 oră.

Acidorezistența bacililor tuberculozei, ar fi datorită, după Tamura, prezenței micolului. Long apără același punct de vedere, însă consideră că micolul conferă acidorezistența nu prin proprietățile sale chimice, ci prin modul său de răspîndire în masa bacilului. In sprijinul acestei opinii stă și constatarea că bacilii pierd acidorezistența după triturarea prelungită în mojar.

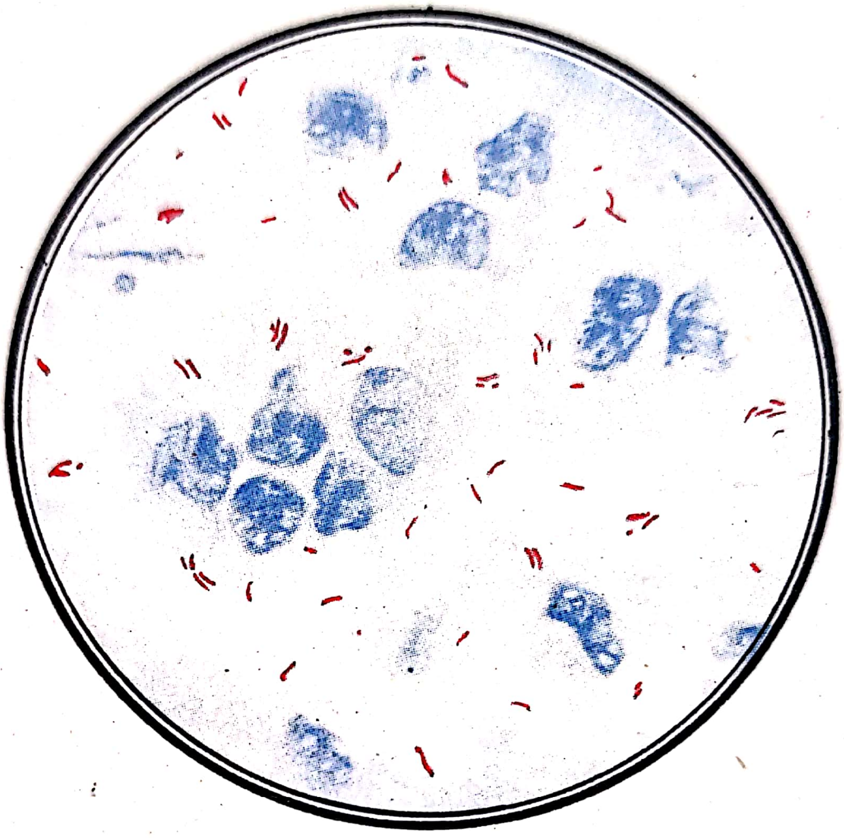
Bacilii tuberculozei, se colorează de obicei în laboratoare prin metoda Ziehl-Neelsen.

S-au propus însă și alte metode. Halberg (1941—1946) înlocuiește, de exemplu, în metoda Ziehl-Neelsen, fucsina Ziehl prin Nachtblau (Grübler sau Gurr), iar albastrul de metilen prin Bismarkbraun, obținînd o colorație albastră-intensă a bacilului, fondul frotiului fiind roșiatic sau galben-brun.

1. Frotiul se colorează întîi cu următoarea soluție colorantă:

soluția alcoolică saturată de Nachtblau (5 g în 100 ml alcool de 95°)	10 ml
acid fenic lichid	2,5 ml
soluție 10% de hidrat de potasiu	0,2 ml
apă distilată	100 ml

PLANŞA VII



Mycobacterium tuberculosis
Frotiu din spută de om (desen: *Cerni*)

In apă se pune întîi soluția de hidrat de potasiu, apoi acidul fenic și la urmă soluția alcoolică a colorantului.

2. Frotiul se decolorează cu soluția următoare:

acid clorhidric 25%	4 ml
alcool 70°	100 ml

3. Se spală cu apă.
4. Se recolorează pentru contrast cu următoarea soluție:

Bismarkbraun	0,10 g
Acid acetic 1%	0,2 ml
apă distilată	100 ml

sau cu soluția formată din:

pironină	0,25 g
acid fenic cristalizat	0,5 g
apă distilată	100 ml

Colorația granulațiilor cromofile se face după procedeul imaginat de Much sau după metoda descrisă de Fontès.

Much, în vederea punerii în evidență a granulațiilor cromofile, colorează frotiurile cu soluție de violet de gențiană, la cald, pînă la apariția vaporilor de apă; soluția colorantă este înlocuită apoi cu soluție Lügol care acționează 2 minute; lama se tratează apoi 2 minute cu acid azotic 3% și 10—15 secunde cu acid clorhidric 3%; în fine se decolorează cu un amestec, în părți egale, de alcool și acetonă și se recolorează timp de 10 secunde cu fucsină diluată.

Fontès, în același scop, tratează lamele timp de 2 minute cu fucsină Ziehl încălzită ca în metoda Ziehl-Neelsen, le spală cu apă, le recolorează cu soluție de cristal violet fenicat, le spală de trei ori cu o soluție Lügol; urmează decolorarea cu alcool acetonă, recolorarea cu soluție de albastru de metilen fenicată (soluție Kühne) și spălarea cu apă. Granulațiile sînt colorate în violet-închis, iar bacilii în roșu.

Medii de cultură. Bulionul și agarul simplu nu convin nici izolării și nici întreținerii culturilor. Intr-adevăr, bacilii umani și bovini refuză să se dezvolte pe aceste medii, iar bacilul aviar dă o cultură slabă. Prin glicerinare 5% agarul și bulionul simplu devin medii favorabile, mai ales pentru tulpinile adaptate la condițiile artificiale de cultură. Drept medii solide se folosesc, în mod obișnuit, cartoful glicerinat și mediile care au la bază oul de găină. Agarul glicerinat, deși cultivă bacilul, nu este folosit în laboratoarele de tuberculoză. Toate mediile favorabile cultivării bacilului tuberculozei conțin glicerină, care constituie un factor esențial de creștere pentru acest germen. Bacilii de tip bovin, recent izolați, fac excepție de la această regulă; ei se cultivă inițial mai bine pe medii (cartof) fără glicerină, decît în cele cu glicerină. După adaptarea pe medii artificiale acest tip crește bine și pe medii glicerinate. La fel se comportă față de glicerină și tipul murin. Glicerina a fost introdusă, în mediile de cultură ale bacilului tuberculozei, de Nocard și Roux (1887), care glicerinează serul coagulat de oaie sau bou folosit inițial de Koch ca mediu de cultură pentru izolarea bacilului tuberculozei.

Dăm mai jos modul de preparare a cîtorva medii curent folosite pentru cultivarea bacililor tuberculozei.

Bulionul glicerinat se prepară din carne de bou; conţine peptonă 1% şi glicerină 5%; pH-ul optim: 7,0—7,2.

Bulionul de cartofi este preparat astfel: 500 g de cartofi curăţiţi de coajă se fierb într-un litru de apă; totul se filtrează şi lichidului obţinut i se adaugă hidrat de sodiu pînă la neutralizare, apoi se sterilizează 30 de minute la 120°C. Bacilul se cultivă bine în acest lichid şi dă culturi mai abundente dacă se adaugă lichidului glicerină în proporţie de 4—5%.

Bulionul de ou al lui Besredka: Gălbenuşurile a 20 de ouă se amestecă cu 1 l de apă distilată neutră; amestecului i se adaugă puţin cîte puţin, pînă la jumătate din volumul total dintr-o soluţie de hidrat de sodiu 1% şi apoi cîte 1 ml din aceeaşi soluţie pînă la clarificarea mediului; în general, este nevoie de 10 ml de soluţie pentru a obţine o transparenţă convenabilă a mediului. Volumul se completează apoi cu apă distilată neutră pînă la 7 l. Se distribuie în tuburi sau baloane şi se autoclavează 20 de minute la 115°C, pentru sterilizare.

Mediul lui Sauton (1912) este un mediu lichid sintetic şi are următoarea compoziţie:

asparagină	4,00 g
acid citric	2,00 g
fosfat bipotasic	0,5 g
sulfat de magneziu	0,5 g
citrat de fier amoniacal	0,05 g
glicerină	60 g
apă distilată ad.	1 000 g

Asparagina şi sărurile se dizolvă în apă încălzită la 70°C; se adaugă apoi glicerină, restul de apă şi se aduce la pH = 7,2.

Mediul lichid al lui Youmans are următoarea compoziţie:

asparagină	5 g
fosfat monopotasic	5 g
citrat de magneziu	1,5 g
sulfat de potasiu	0,5 g
glicerină	20 g
apă distilată ad.	1 000 g
pH = 7,0 — 7,2	

Mediul lichid al lui Long şi Seibert (1826) se compune din:

asparagină	5 g
citrat de amoniu	5 g
fosfat dipotasic	3 g
carbonat de sodiu (anhidru)	3 g
clorură de sodiu	2 g
sulfat de magneziu	1 g
citrat de fier amoniacal	0,05 g
glicerină	50 g
apă distilată	1 000 g

Dorset (1934) modifică acest mediu alăugîndu-i glucoză 1% și mărind cantitatea de glicerină de la 50 la 100 g. Mediul astfel modificat a fost folosit de autor pentru prepararea tuberculinei și el poartă numele autorului.

Ulterior i s-au mai adus și alte modificări astfel că în prezent mediul Dorset se prepară din:

fosfat bipotasic (3 H_2O)	0,18%
citrat de sodiu	0,09%
sulfat de magneziu (7H_2O)	0,15%
citrat de fer (paiete)	0,03%
asparagină naturală	1,4 %
glucoză	1,0 %
glicerină	10,0 %
apă distilată	

pH final 6,8 — 7,0
autoclavat la 1 atm. timp de 12 minute.

Mediul Model, modificat de *Govorov-Ostașko,* se compune din:

glicocol	5,00 g
citrat de amoniu	5,00 g
fosfat bipotasic	5,00 g
sulfat de magneziu (7 H_2O)	0,5 g
sulfat feros	0,05 g
calciu glicerofosfat	0,1 g
glicerină	60,00 g
apă ad.	1 000 ml

și dă bune rezultate.

Mediul lichid al lui Frouin are următoarea compoziție:

asparagină	5 g
citrat de sodiu	1 g
sulfat de magneziu	1 g
fosfat monopotasic	1 g
glucoză	5 g
glicerină	40 g
apă ad.	1 000 g

Pe lîngă aceste medii lichide se mai pot folosi și altele (Georgescu și col., 1954).

Cartoful glicerinat a fost introdus ca mediu de cultură pentru bacilul tuberculozei de Pawlowsky, în 1888. Se prepară după metoda obișnuită.

Cartoful biliat (Calmette și Guérin). Bila de bou se sterilizează la 120°C timp de 20 de minute, se ține apoi în repaus la temperatura laboratorului, 3 săptămîni; în acest interval are loc depunerea mucusului și detritusurilor celulare și se produce și precipitarea pigmenților biliari care se elimină prin filtrare (hîrtie de filtru). Feliile de cartof, tăiate în mod obișnuit, se acoperă cu bilă filtrată și glicerinată 5% și se încălzesc 3 ore la 75°C. Feliile astfel preparate se pun în tuburi Roux în care, în loc de bulion glicerinat, se adaugă bilă glicerinată. Sterilizarea se face la 120°C timp de 30 de minute.

Mediul cu ou al lui Petroff (1915). Ouăle sînt ţinute 15 minute în alcool de 70°C pentru dezinfecţie. Se scot din alcool cu mîna protejată de mănuşi de cauciuc sterile, se sparg şi conţinutul se recoltează într-un vas steril; se omogenizează cu o baghetă sterilă de sticlă şi se filtrează prin tifon. Pentru 400 ml de ou se adaugă 200 ml de lichid trecut prin tifon şi provenind dintr-o maceraţie proaspătă de carne de viţel (250 g de carne tocată + 212 g de apă + 37,5 g de glicerină, totul păstrat o noapte la gheţar). Amestecul se repartizează în tuburi, care se încălzesc 3 zile consecutiv; prima zi 30 de minute la 85°C, a doua şi a treia zi cîte 30 de minute la 75°C. Mediul se poate colora cu violet de genţiana; se adaugă, în acest scop, pentru fiecare 100 ml, cîte 1 ml dintr-o soluţie alcoolică 1%, de violet de genţiană. Mediul colorat, este favorabil izolării bacilului, graţie acţiunii bacteriostatice a violetului de genţiana; cel necolorat întreţinerii culturilor obţinute.

Mediul lui Petragnani (1926) se inspiră şi este o variantă a mediului lui Petroff. Se prepară după cum urmează. Intr-un balon se pun:

150 ml lapte de vacă
6 g făină de cartof
1 g peptonă
1 cartof curăţit şi tăiat în bucăţi

Balonul se pune într-un vas cu apă în fierbere, unde se ţine 8—10 minute (pînă ce amestecul se îngroaşă), rotind în acest timp balonul, pentru a se asigura astfel omogenitatea amestecului. Balonul rămîne încă în apa în fierbere, fără a-l agita, timp de 1 oră. Apoi balonul se scoate şi se lasă să se răcească amestecul în jurul temperaturii de 60°C, cînd se adaugă:

conţinutul a patru ouă de găină
un gălbenuş de ou de găină, fără albuş,
12 ml de glicerină
10 ml de soluţie apoasă 2% de verde malachit Höchst.

Amestecul este bine agitat, trecut printr-un tifon steril, într-un alt balon steril, şi repartizat apoi în tuburi sterile. Mediul este coagulat în poziţie înclinată, încălzindu-l prima zi 25 de minute la 85°C, a doua şi a treia zi cîte 25 de minute la 75°C.

Mediul Petragnani modificat de Prozorov. Inlocuind în mediul Petragnani verdele de malachit, cu un amestec fie de:

1. roşu neutru + albastru de metilen (soluţie 0,2% amestecată în părţi egale şi adăugate mediului în proporţie de 4 ml pentru 100 ml de mediu) fie de
2. roşu neutru + verde malachit,

Prozorov (1956) obţine un mediu pe care bacilii acidorezistenţi saprofiţi se comportă altfel decît bacilii tuberculoşi patogeni sau nepatogeni, şi anume: primii modifică culoarea iniţială a mediului, în timp ce ultimii o lasă neschimbată.

Mediul lui Löwenstein. Se prepară întîi următoarea soluţie:

fosfat monopotasic	1 g
citrat de sodiu	1 g
sulfat de magneziu	1 g
asparagină	3 g
glicerină neutră	60 g
apă distilată	1 000 ml

Soluţia, încălzită 2 ore la 100°C, se conservă timp îndelungat. Pentru a prepara mediul, se pune, într-un balon steril, cu perle de sticlă, întîi 150 g din această soluţie, apoi 12 g de glicerină încălzită la 30°C, neutră şi sterilizată, precum şi 6 g de făină de cartof. Se agită bine şi totul se încălzeşte întîi 15 minute la 100°C şi apoi 1 oră la 56°C. Amestecului, păstrat la 56°C i se adaugă patru ouă complete, plus un gălbenuş, precum şi o soluţie colorată, şi anume : fie 10 ml dintr-o soluţie apoasă sterilă de roşu de Congo 2%, fie 5 ml dintr-o soluţie apoasă de verde malachit 2%. Amestecul se trece prin tifon steril se repartizează în tuburi şi se coagulează, prin încălzire, în poziţie înclinată ; încălzirea se face 2 zile consecutiv, cîte 2 ore, la 80—85°C. Mediul este utilizat cu succes în izolarea bacilului din materiale patologice. Poate fi folosit şi la numărarea germenilor dintr-o suspensie dată (O'Hea, 1955).

Mediul Laporte. Cîteva ouă de găină se sparg, recoltînd separat, şi în mod aseptic gălbenuşurile ; acestea din urmă se amestecă cu un volum egal de ser de bou sau cal ; la volumul astfel obţinut se adaugă 1/10 bulion glicerinat 5%, se filtrează şi apoi, pentru fiecare 700 ml, se adaugă cîte 10 ml de soluţie apoasă, sterilă, de verde malachit 2%.

Mediul Lumière modificat de Laporte. Ficatul sau muşchiul de bou se fierbe la autoclav şi apoi se taie în felii de mărimea celor de cartof ; feliile de organ sînt puse în tuburi Roux, în care se adaugă bulion glicerinat, în aceleaşi condiţii, ca şi la cartof. Sterilizarea se face la autoclav, 20 de minute la 120°C. Mediul este favorabil izolării şi întreţinerii tulpinilor bovine ; variantele dizgonice ale acestui tip dau, pe acest mediu, o cultură abundentă în 15—20 de zile.

Mediul Dubos permite dezvoltarea rapidă a bacilului ; în plus, aspectul culturilor, pe acest mediu, este diferit faţă de aspectul culturilor pe medii similare ; bacilul tuberculozei dă pe acest mediu fie o cultură omogenă, fie o cultură aglutinată şi sedimentată. Aceste însuşiri sînt datorite, pe de o parte, prezenţei în mediu a unui ester de acid gras care permeabilizează capsula cirogrăsoasă a bacilului, uşurînd procesele metabolice, iar, pe de altă parte, introducerii în mediu a unei albumine serice (fracţia V a seroalbuminei de bou) care neutralizează activitatea toxică a acizilor graşi, rezultaţi prin hidroliza esterului de acid gras.

Mediul are următoarea compoziţie :

PO_4H_2K	1 g
$PO_4HNa_2 + 12H_2O$	6,25 g
Citrat de sodiu	1,5 g
$SO_4Mg + 7H_2O$	0,6 g
Tween 80	5 ml. dintr-o soluţie 10%
Hidrolizat de cazeină	20 ml dintr-o soluţie 10%
Apă	1 000 ml

Se sterilizează 10—15 minute la 120°C, se adaugă, aseptic, în proporţie de 0,1—0,2% fracţia V a seroalbuminei de bou şi se repartizează în tuburi.

Seroalbumina de bou (fracţia V) se poate găsi gata preparată, dar se poate obţine şi în laborator. In acest scop, la 10 ml de ser de bou se adaugă acid clorhidric n/1 pînă la pH = 2 (aproximativ 1,5 ml de ClH) ; amestecul se încălzeşte 10 minute la 90°C. se produce un precipitat care se elimină prin centrifugare ; se neutralizează filtratul cu NaOH n/1 ; urmează o nouă centrifugare ; lichidul clar obţinut poate înlocui soluţia de seroalbumină, fracţia V.

Tween 80, care este un polioxietilen monooleat de sorbitan, se poate găsi preparat. El este un detergent, avînd un capăt al moleculei hidrofil şi altul liofil; prin proprietăţile sale, el dispersează bacilii în mediu, ceea ce permite o dezvoltare rapidă şi o difuzare în tot mediul. Tween 80 poate fi substituit cu un produs similar ce se poate obţine în laborator. In acest scop, 0,12 ml de acid oleic se dizolvă în 10 ml de NaOH n/20 şi se agită; se adaugă apoi 5 ml din acest amestec, peste 95 ml din soluţia neutră a fracţiei V de plasmă bovină (soluţie 5%, în ser fiziologic). Se sterilizează prin filtrare.

Levaditi şi Kreis, în 1949, recomandă ca mediul Dubos să se prepare după tehnica pe care o dăm mai jos.

Prepararea mediului Dubos de bază

1. Fosfat monopotasic (KH_2PO_4)	1 g
2. Fosfat disodic ($Na_2\ PO_4 + 12\ H_2O$)	6,3 g
3. Asparagină	1—2 g

Substanţele se pun în 100 ml de apă distilată şi totul se încălzeşte pînă la dizolvare.

Se adaugă apoi:

1. 850 ml apă distilată;
2. hidrolizat enzimatic de cazeină 1—2 g (20—40 ml dintr-o soluţie Stock 5% în apă distilată autoclavată);
3. citrat de fier amoniacal 0,005—0,05 g;
4. sulfat de magneziu ($SO_4Mg + 7H_2O$) 0,01 g (1 ml dintr-o soluţie Stock de 1% în apă distilată);
5. clorură de calciu (Cl_2Ca) 0,0005 g (1 ml dintr-o soluţie Stock 0,05 în apă distilată);
6. sulfat de Zinc (SO_4Zn) 0,0001 g (1 ml dintr-o soluţie Stock de 0,01% în apă distilată):
7. sulfat de cupru (SO_4Cu) 0,0001 g (din soluţie Stock) pH = 6,5—6,8. Acest mediu de bază serveşte la prepararea mediilor de cultură.

Mediul Tween 80 pentru cultura difuză a tulpinilor deja izolate

Mediu de bază	90 ml
Tween 80	0,05 ml

(0,5 ml dintr-o soluţie 10% în apă distilată, care se poate conserva la gheţar cel puţin 1 lună).

Se autoclavează, la 120°C, timp de 15 minute. După răcirea mediului se adaugă, aseptic, 0,5 g de albumină fracţia V, adică 10 ml dintr-o soluţie sterilă 5%. Sterilizarea acestei din urmă soluţii se face prin Chamberland L_3; în lipsa dispozitivului de filtrare se poate steriliza prin căldură în mediu acid. In acest scop, la 10 ml din soluţia de albumină 5% se adaugă 1 ml de acid clorhidric normal, se încălzeşte 10 minute la 90°C şi se răceşte, după care se neutralizează cu o soluţie sterilă de hidroxid de sodiu.

Se mai adaugă, aseptic, 0,5 g de glucoză, adică 1 ml dintr-o soluţie 50% în apă distilată, filtrată prin L_3 (sau se sterilizează la autoclav, în pH acid sau neutru, evitind caramelizarea). Se repartizează în tuburi cu diametrul de 25 mm, de preferinţă Pyrex, cîte 5 ml de tub (în tuburi ordinare de 16 mm nu se pun decît 3—4 ml).

Tuburile în prealabil sînt spălate atent, clătite cu apă distilată și sterilizată la autoclav (și nu la căldura umedă care caramelizează dopurile de vată). Mediile nu se conservă mult timp. Trebuie să fie preparate pe măsura nevoilor.

Mediul cu albumină pentru izolarea bacilului tuberculozei din produse patologice. Pentru a fi selectiv, mediul trebuie să conțină o cantitate mai redusă de asparagină, și anume numai 1 g; conține hidrolizat de cazeină tot 1 g, iar de citrat de fier 0,005 g la 1 l. Tweenul poate lipsi sau se adaugă în concentrație de 0,001%, deoarece anumite tulpini sînt greu de izolat cînd concentrația de Tween este mai mare; pH-ul este ajustat la 6,5; glucoza este suprimată.

Se însămînțează acest mediu lichid cu cîteva picături din produsele patologice tratate sau nu cu sodă sau acid. Cultura este cu atît mai rapidă, cu cît produsul însămînțat a fost mai bogat în bacili; ea este uneori pozitivă după 4 zile; în medie, după 8—14 zile. Mediul, după incubație, prezintă un depozit care trebuie examinat la microscop, pentru a vedea dacă este vorba de bacilul tuberculozei sau de germeni banali. Infectarea mediului este frecventă; totuși, aceasta nu împiedică cultivarea bacililor tuberculozei.

Mediul Dubos gelozat. Mediul Dubos se poate solidifica adăugîndu-i geloză.

Geloza este însă toxică prin acizii grași cu lanț lung, pe care îi conține și de aceea, pentru a neutraliza toxicitatea mediului, trebuie să se mențină proporția de albumină la 0,5%; impuritățile din geloză fixează fierul așa că este necesar să se mărească și concentrația acestui element. Mediului i se poate adăuga penicilină, care scade frecvența infecțiilor cu germeni străini însă, în acest caz, nu se mai adaugă Tween, deoarece în prezența acestuia penicilina poate inhiba dezvoltarea bacilului.

Prepararea

Mediul de bază (cu 0,05 citrat de fier la litru)	90 ml
Geloză în praf (Difko) 1,5 g sau geloză fibre	2 g
Se autoclavează, se răcește, la 60°C și se adaugă: complex acid oleic-albumină (soluție sterilă 5%)	10 g
Penicilină (soluție de 5 000 U.I. pe 1 ml)	1,3 ml

Se repartizează în tuburi sau în plăci Petri-Pyrex, cu diametrul de 5 cm, care se închid cu o mică bandă de celofan. Pe acest mediu, bacilul Koch formează colonii albe, rotunde, diferite de coloniile de pe mediile cu ou. Poate fi folosit pentru numărarea germenilor vii dintr-o suspensie oarecare (Fenner, 1951). Pentru izolarea bacilului tuberculozei, din produse patologice mediul pare a fi inferior mediului Löwenstein.

Izolarea bacilului din diverse materiale patologice

Izolarea bacilului tuberculozei din produse necontaminate cu alți germeni se poate face fără a recurge la o tehnică specială. In acest caz, însămînțările se fac în mod obișnuit și cultura devine vizibilă după cîteva săptămîni. Astfel se pot izola, bacilii din organele oamenilor sau păsărilor cu leziuni tuberculoase. Cum însă, de cele mai multe ori, materialul tuberculos este infectat și cu alți germeni, este necesar ca aceștia să fie eliminați, înainte de însămînțare, deoarece ei se dezvoltă mai repede și împiedică, în toate cazurile, dezvoltarea agentului specific. Pentru distrugerea bacteriilor neacidorezistente se face, de regulă, apel, fie la hidratul de sodiu, fie la acidul sulfuric, substanțe lipsite de nocivitate pentru bacilii acidorezistenți, dar cu o acțiune antiseptică remarcabilă pentru bacteriile neacidorezistente. Există mai multe procedee de izolare a bacilului tuberculozei din materiale cu floră variată. Prima metodă folosită în acest scop a fost imaginată de Spengler (1900). Autorul reușește să distrugă flora secundară, prin vapori de formol. Piatkowski obține rezultate similare amestecînd două picături de formol cu 10 ml de bulion în care se suspendă materialul patologic. Uhlenhuth (1908—1909) introduce în același scop, antiformină, constatînd că în produsele tratate cu o soluție 30% de antiformină bacilii acidorezistenți se conservă, în timp ce neacidorezistenții sînt distruși. În 1915, Petroff folosește cu bune rezultate în distrugerea florei secundare soluțiile 4% de sodă, iar în 1924 Löwenstein soluțiile de acid sulfuric. Aceste două metode se sprijină pe cercetările făcute în prealabil de autorii respectivi și care au demonstrat rezistența bacililor acidorezistenți la alcali și acizi. Ele sînt în prezent folosite aproape exclusiv pentru izolarea bacililor tuberculozei din materiale cu floră secundară sau de putrefacție.

Procedeul lui Petroff (1915). Se folosește hidratul de sodiu 4%, care se amestecă, în părți egale, cu sputa sau alt material suspect. După ce se ține 30 de minute la 37°C amestecul se centrifughează, depozitului i se adaugă, pentru neutralizare, cîteva picături de acid clorhidric și apoi se însămînțează în mai multe tuburi cu medii de ou.

Procedeul Saenz-Costil (1936) este o modificare a metodei de izolare imaginată de Löwenstein (1924). 1—2 grame material suspect se triturează într-un mojar steril, se amestecă, apoi, cu cîtiva mililitri de acid sulfuric diluat 15% și în prealabil sterilizat; din amestec se face un frotiu care se colorează după metoda Ziehl-Neelsen. Dacă în frotiu sînt numai bacili acidorezistenți, contactul cu acidul sulfuric este de 10—15 minute, dacă se mai găsesc și alți germeni atunci contactul este de 20 de minute; amestecul, după acest interval este neutralizat cu soluție 30% de hidrat de sodiu sterilă. Neutralizarea se face folosind tinctură de turnesol sterilă ca indicator. Însămînțările se fac imediat după neutralizare, în medii cu ou; pe suprafața fiecărui tub se pun cîte 10—15 picături.

Procedeul lui Löwenstein pentru cultivarea bacilului tuberculozei din sînge. Sîngele se recoltează aseptic, din vena jugulară, în tuburi obișnuite, sterile, care conțin 3 ml de soluție de citrat de sodiu 10%; de la un bolnav se recoltează 5—10 ml de sînge. Sîngele, în prezența citratului de sodiu, nu se coagulează; globulele roșii se depun pe fundul tubului singure sau prin centrifugare. Plasma se decantează, iar globulele roșii se amestecă cu 10—20 ml dintr-o soluție 3% de acid sulfuric steril; după 5 minute de contact sîngele hemolizat se amestecă cu 20 ml de apă distilată într-un tub de centrifugă cu o capacitate de 300 ml. Se centrifughează 15 minute la 1 500 de turații pe minut. Lichidul rezultat prin centrifugare se varsă, iar depozitul se spală bine cu ajutorul unei pipete într-un volum de 250 ml de apă distilată. Urmează o nouă centrifugare (spălările și centrifugările au de scop să elimine hemoglobina, care, după Löwenstein, împiedică dezvoltarea bacilului tuberculozei), apa se elimină, iar depozitul se însămînțează pe mai multe tuburi cu mediu Löwenstein. Culturile apar după 15—20 de zile, iar în cazul cînd după acest interval coloniile nu devin vizibile, Löwenstein recomandă să se facă frotiuri de pe suprafața mediului și proba o consideră pozitivă cînd în frotiuri se găsesc bacili acidorezistenți care, din motive încă necunoscute, ar produce, după autor, nu macrocolonii vizibile ci microcolonii invizibile. Această opinie nu a fost confirmată şi de alţi cercetători. Löwenstein, aplicînd acest procedeu, a ajuns la concluzia că bacilemia tuberculoasă este foarte frecventă ; procedeul nu a dat aceleaşi rezultate în mîinile altor cercetători. Bacilemia tuberculoasă pare a fi rară după alţi autori. Calmette şi Saenz, de exemplu, au însămînţat 936 de probe de sînge provenind de la tuberculoşi, reumatizaţi sau bolnavi de demenţă precoce, neobţinînd rezultate pozitive decît în 12 cazuri, adică 1,2%. Tomescu (1933) a făcut numeroase însămînţări, după tehnica lui Löwenstein, din sîngele a 21 de cîini infectaţi experimental, obţinînd macrocolonii de la un singur cîine care a murit, de altfel, peste 5 zile de tuberculoză. In ceea ce priveşte bovinele, von Oijen (1934) afirmă că bacilemia, în anumite forme de tuberculoză, este destul de frecventă.

Procedeul microculturii pe lamă. Lamele obişnuite se taie în două, în lungime, şi pe fiecare jumătate se întinde materialul suspect — spută, puroi etc. — în condiţiile în care se face un frotiu. Lama se usucă. Apoi se ia lama cu o pensă şi se pune, pentru 6—7 minute, într-o soluţie 6% de acid sulfuric, în scopul de a distruge flora de asociaţie. După acest interval, lamele se scot, se trece prin două băi cu apă distilată sterilă, fără a agita lama în baie şi apoi se introduc într-un tub care conţine un mediu lichid convenabil (Sauton sau altul). Tubul se incubează la 37°C. După 7 zile, lamele se scot, se fixează, se colorează după metoda Ziehl—Neelsen şi se examinează la microscop. Examenul este pozitiv cînd în cîmpul microscopic se găsesc mase de bacili acidorezistenţi (microcolonii).

Bernard şi Kreis (1949) au folosit acest procedeu pentru a determina streptomicino-rezistenţa bacililor tuberculozei. In acest caz, mediul de cultură conţine şi streptomicină. Se folosesc mai multe tuburi cu concentraţii diferite de streptomicină.

Punerea în evidenţă a bacililor în lapte si derivatele sale. Bacilii tuberculozei prezenţi în lapte sau derivatele sale pot fi puşi în evidenţă prin : a) examen microscopic direct; b) însămînţări; c) inoculări la cobai. O probă este considerată negativă cînd toate cele trei examene au dat un rezultat negativ şi este pozitivă cînd cel puţin una din ele a permis punerea în evidenţă a bacilului tuberculozei. Examenul microscopic direct este cel mai puţin precis pentru că, în primul rînd, el descoperă cel mai rar infecţiile şi, în al doilea rînd, nu permite să se distingă bacilii tuberculozei de saprofiţii acidorezistenţi.

Metoda inoculării la cobai este cea mai sensibilă, căci ea permite decelarea în procentul cel mai ridicat al probelor de lapte infectate.

Tehnica examenului microscopic direct. Frotiurile directe din lapte nu dau decît rar rezultate pozitive. De aceea, laptele se centrifughează şi frotiurile se fac din depozitul de centrifugare a unei cantităţi de 40—50 ml. O însemnată îmbunătăţire a valorii examenului microscopic s-a realizat prin introducerea, în examenul microscopic al laptelui, a metodei flotaţiei (metoda Bobrov) Driabina (1951) examinînd 92 de probe de lapte, provenind de la vaci tuberculoase, a obţinut opt rezultate pozitive prin metoda flotaţiei şi numai două prin examenul depozitului de centrifugare.

Principiul metodei flotaţiei. Dacă se amestecă o suspensie în apă, de bacili ai tuberculozei, cu benzină, gazolină, toluol sau xilol şi se agită bine, se constată că aceste din urmă lichide, ridicîndu-se la suprafaţă, antrenează şi mare parte din bacilii care se găseau în suspensie. In lichidul de la suprafaţă, şi anume la limita dintre soluţia apoasă şi solvantul grăsimilor, se realizează o concentraţie a bacililor, ceea ce permite descoperirea lor prin examen microscopic.

Tehnica metodei flotaţiei în examenul laptelui (Driabina). 50 ml de lapte se pun într-o sticlă gradată de 250 ml. Se adaugă şi se amestecă cu laptele 50 ml de soluţie 0,6% de hidrat de potasiu (KOH). Balonul se agită bine şi se ţine 30 de minute într-o baie de apă la 50—60°C. Se adaugă apoi 0,5—1 ml de xilol, 60—80 ml de apă distilată şi conţinutul se pune într-o sticlă cu gît strîmt, de obicei într-un balon cotat de chimie; se agită puternic şi apoi se lasă în repaus 45—60 de minute la temperatura camerei. In acest timp, xilolul se ridică la suprafaţă constituind un strat cremos în care se adună şi bacilii care eventual s-ar găsi în lapte. Din stratul cremos de la suprafaţă se fac cu acul frotiuri groase pe lame încălzite şi menţinute la temperatura de 60°C. Frotiul se degresează apoi atent cu eter, se fixează la flacără, se colorează prin metoda Ziehl-Neelsen şi se examinează.

Metoda flotaţiei se poate aplica şi la examenul altor produse tuberculoase, spută, jetaje, produse cazeoase etc. Klebanova şi Screabina (1951) recomandă să se excludă din metodă încălzirea, pentru a se putea folosi inelul cremos de la suprafaţa amestecului nu numai pentru bacterioscopie, dar şi pentru însămînţări şi inoculări la cobai.

Insămînţările din lapte sînt făcute în felul următor: laptele — 50 ml — este centrifugat 30 de minute la o viteză de 3 000 de ture, depozitul este tratat cu un volum egal de sodă n/1 şi, după 30 de minute de contact, amestecul este neutralizat cu acid clorhidric n/1 în prezenţa tincturii de turnesol şi apoi este însămînţat.

Brînza, în vederea însămînţării, se emulsionează în soluţie de sodă 4%, se centrifughează după 20—30 de minute şi apoi depozitul se însămînţează.

Mediile folosite pentru aceste însămînţări nu trebuie să conţină mai mult de 1,5% glicerină. Cele mai bune rezultate se obţin pe medii solide cu ou.

Inocularea la cobai. Depozitele de centrifugare preparate pentru însămînţare pot servi şi la inocularea cobaiului: jumătate din depozit se însămînţează, iar cealaltă jumătate se inoculează subcutan. In cazul unui depozit cu floră bacteriană bogată se recomandă să se adauge depozitului de centrifugare 1 ml de sodă n/1; după 30 de minute de contact la 37°C amestecul se neutralizează cu acid sulfuric 15% în prezenţa tincturii de turnesol şi se inoculează pe cale subcutană. Untul se poate inocula ca atare după topirea lui la 40°C.

Caractere culturale. Bacilul tuberculozei, spre deosebire de alte specii bacteriene, se dezvoltă încet; chiar pe mediile cele mai favorabile cultura nu devine vizibilă, în cele mai bune condiţii, înainte de 9—15 zile. Bacilii care provin direct din organe se cultivă şi se multiplică mai încet ca acei care au suferit un număr de treceri pe mediile artificiale. Durata acestui proces de adaptare, la condiţii artificiale de cultură, variază de la un tip la altul; tipul uman şi aviar se adaptează repede; tipul bovin foarte încet. Tipurile uman şi aviar, direct din organe, dau, în general, colonii vizibile după 9—15 zile, şi chiar după 5 zile pe unele medii, cum este de exemplu, mediul Dubos sau mediul recomandat de Oeriu şi colaboratorii (1952), iar tipul bovin după 30—75 de zile. Tipul bovin este de obicei dizgonic, iar tipurile uman şi aviar sînt, în majoritatea cazurilor eugonice, adică se dezvoltă repede, dînd o cultură abundentă. Aspectul coloniilor formate de bacilii care provin direct din organe este, în linii generale, caracteristic fiecărui tip.

Tipul uman se dezvoltă bine pe mediile cu ou și pe cartoful glicerinat: cultura este bine vizibilă după 15—30 de zile la 38°C. Coloniile izolate sînt aspre, colțuroase, cu marginile neregulate; dimensiunile lor cresc atunci cînd coloniile sînt rare pe suprafața mediului şi au suficient spaţiu de extindere. Pe suprafața coloniilor vechi apar colonii-fiice, care, în unele cazuri, conţin germeni cu însuşiri diferite în raport cu cei ai coloniei primare. Cultura se dezvoltă, chiar de la primul pasaj, în medii lichide, ca bulion glicerinat sau mediul Sauton. Se izolează rareori tulpini umane de tip dizgonic; ele dau pe mediile cu ou colonii mici, cu suprafața și marginile netede, apropiindu-se astfel de tipul bovin.

Tipul bovin în momentul izolării din organele animalelor spontan infectate, se dezvoltă încet și dă o cultură foarte slabă chiar pe mediile cu ou, și refuză, în general, să se multiplice, mai ales cînd provin din leziuni vechi, pe cartoful glicerinat. Glicerina favorizează dezvoltarea tipului uman, dar inhibă net multiplicarea pe cartof a tipului bovin (recent izolat). Rezultate mai bune, în ceea ce privește posibilitățile de izolare se obțin pe mediul lui Lumière-Laporte.

Coloniile, în cazul cînd însămînțările se fac direct din organe pe medii cu ou, devin vizibile după 30—75 de zile și sînt mici, bombate, lucitoare. Cultura se omogenizează ușor în apă fiziologică sau în alt lichid; ea are deci toate caracterele tipului S. Prin treceri repetate pe medii de cultură, tulpinile își modifică aspectul; cultura crește din ce în ce mai repede, iar coloniile devin aspre, pierd luciul și nu se mai omogenizează cu ușurință în lichide, cultura căpătînd caracterele culturale ale tipului R. O tulpină bovină, astfel transformată, nu se mai deosebește cultural de o tulpină umană. În acest caz, caracterele distinctive chiar dacă există sînt subiective și neconcludente. Guérin remarcă astfel că cultura tipului uman, în raport cu a tipului bovin, este mai umedă, mai moale și se etalează mai ușor pe suprafața mediului de cultură. Un alt caracter diferențial l-ar constitui producția de pigment; astfel, tulpinile de tip uman sînt frecvent pigmentate, dar cele de tip bovin nu produc pigment decît excepțional. O tulpină care dă colonii pigmentate aparține deci mai curînd tipului uman decît tipului bovin. Pigmentogeneza este mai activă în mediile cu ser de bou.

Forma S a tipului bovin nu se dezvoltă pe mediile lichide; forma R dă însă pe bulionul glicerinat din tuburile cu cartof o membrană transplantabilă pe medii lichide.

Tipul aviar se dezvoltă bine chiar în primele treceri pe medii artificiale de cultură. Coloniile sînt bombate, rotunde, lucitoare și cultura se omogenizează ușor. Unele tulpini formează colonii crateriforme, centrul inițial bombat se turtește, în timp ce marginile se amplifică, constituind un burelet. Prin selecție nu s-a putut ajunge la o variantă care să producă, în mod constant, numai acest tip de colonie. Caracterul S al tulpinilor aviare se pierde prin treceri pe medii artificiale, în special pe cartof glicerinat și cultura îmbracă, cu timpul, aspectul cultural al tipului R, apropiindu-se astfel de tipul uman și de tipul bovin R. Varianta R, imediat după izolare, este puțin stabilă și ea poate trece ușor spre forma S; cu timpul, prin treceri repetate pe cartof glicerinat, caracterul R se stabilizează. Forma S aviară își conservă mult timp caracterele prin treceri exclusive pe medii cu

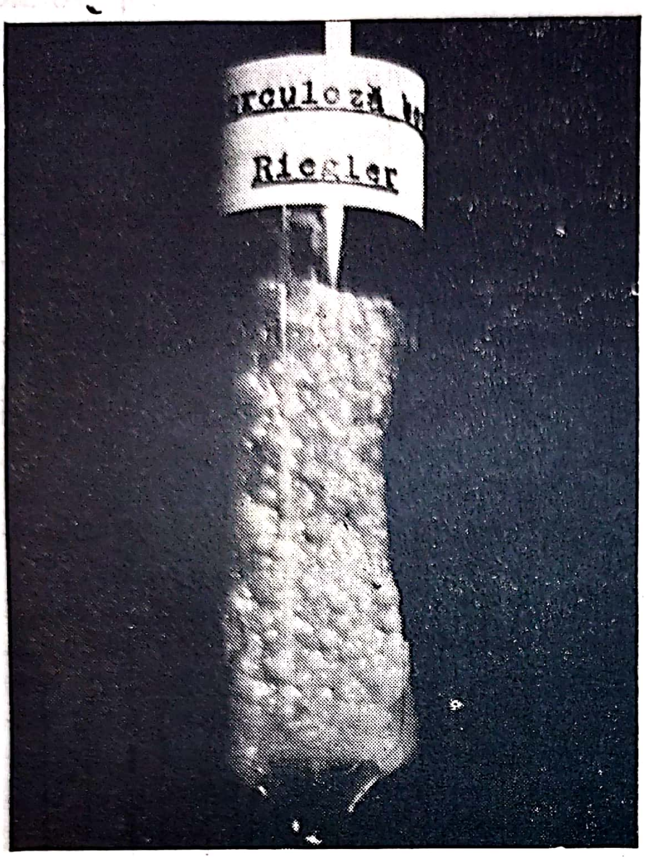


Fig. 73 — Mycobacterium tuberculosis tip bovin

Aspectul culturii pe cartof

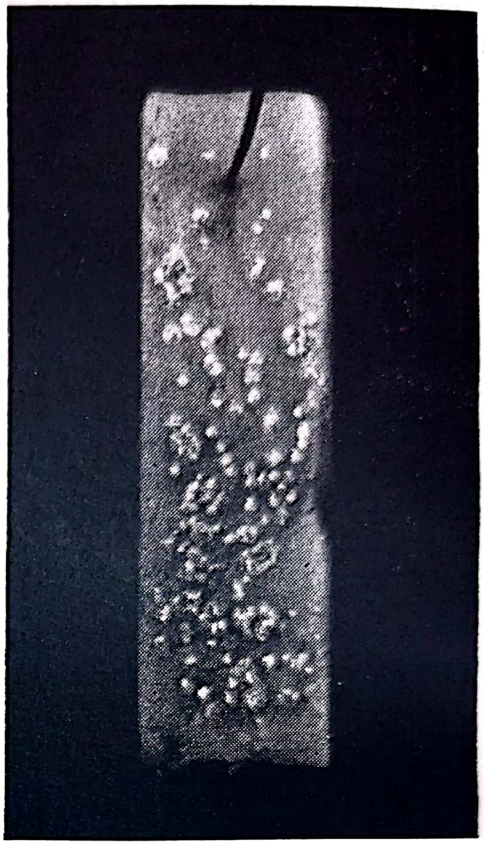


Fig. 74 — Mycobacterium tuberculosis tip aviar

Cultură pe cartof glicerinat. Se observă colonii de tip S şi de tip R

ou. Mediile lichide ca şi cartoful glicerinat, înlesnesc alunecarea tipului S spre tipul R. Tipul aviar S tulbură mediile lichide şi formează o membrană subţire la suprafaţă ; tipul R se dezvoltă numai la suprafaţa mediului. Transformarea tipului S în R s-ar face pe calea coloniilor-fiice (Stamatin, 1938).

Mediile lichide permit cultivarea bacilului tuberculozei. Pentru însămînţarea lor se folosesc ace speciale, plate, cu care se depune, pe suprafaţa mediului de însămînţat, o porţiune de membrană tînără recoltată de pe suprafaţa altui mediu lichid. Pentru prima însămînţare a unei tulpini pe medii lichide se pot folosi membranele dezvoltate pe suprafaţa bulionului glicerinat din tuburile cu cartof. Introducerea unei suspensii de bacili într-un mediu lichid, nu duce în regulă generală, la apariţia unei culturi ; bacilii, în acest caz, dispar fără a putea constitui o membrană.

Dubos a arătat că se poate obţine o cultură omogenă de bacili dacă se adaugă mediului ester polioxietilenic de monooleat de sorbitan sau Tween 80 în proporţie de 0,025 g% .Cum această substanţă este uşor toxică, se poate adăuga mediului, în vederea neutralizării acestei toxicităţi, fracţiunea V de seroalbumină 0,1%, aşa cum s-a arătat mai sus.

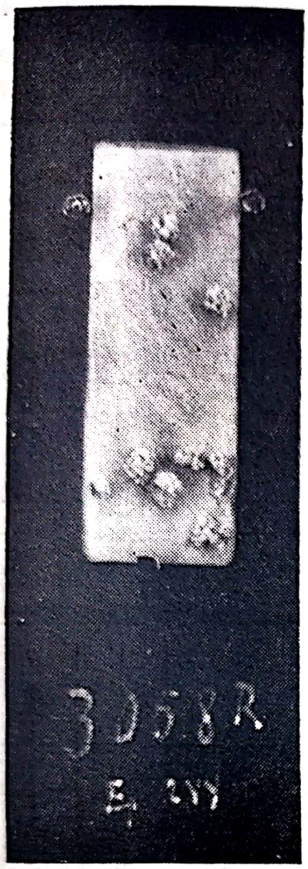


Fig. 75—Mycobacterium tuberculosis, tulpină aviară tip R

Cultură pe cartof

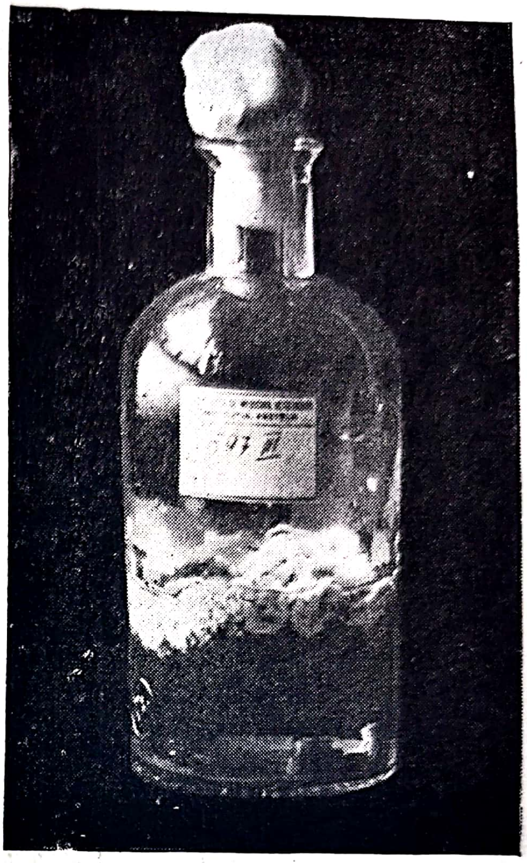


Fig. 76 — Mycobacterium tuberculosis

Cultură de trei luni în mediul Sauton

Cultura în mediile lichide obișnuite este, în general, constituită dintr-o membrană la început subțire, mai tîrziu groasă și încrețită. Membrana devine din ce în ce mai grea și, cînd nu mai poate pluti, cade la fund, pentru ca la suprafață să se formeze o nouă membrană. Cantitatea maximă de germeni se obține după o incubație de 6—8 săptămîni. Un balon de 250 g, care conține 150 ml de mediu, poate să dea pînă la 5 g de bacili umezi; comparativ, lichidul Sauton dă o recoltă mai abundentă ca bulionul glicerinat.

Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950) au determinat cantitatea de germeni care se găsește în 100 ml de mediu Sauton, la diversele intervale de timp, pentru diversele tipuri de bacili. Rezultatele obținute sînt date în tabelul 40.

Aceste cifre sînt valabile pentru tulpinile studiate și pentru cele similare lor. Sînt tulpini, aparținînd tipului uman, bovin sau aviar, care pot avea un alt potențial de multiplicare și care pot da desigur alte rezultate. Este de remarcat, cu privire la acest tabel, că tulpinile atenuate, ca și tipul aviar se dezvoltă mai repede și dau la sfîrșit culturi mult mai bogate decît tulpinile umane sau bovine virulente. La con-

Tabelul 40

Cantitatea de germeni prezentă în 100 ml de mediu la diverse tulpini și după diferite intervale de timp (după Ionescu-Mihăești și col.)

Tulpina	Vîrsta culturii în zile												
	10	16	22	30	31	39	46	53	60	63	75	90	100
H37 (tip uman)	0,16[1]	0,37	0,69	0,87	0,71	0,66	1,37	1,32	0,71	1,28	0,99		1,34
Vallée (tip bovin)	0,34	0,34	0,53	0,82	0,67	0,82	0,95	1,10	1,11	1,05	1,05		1,50
B.C.G.	0,59	0,91	1,44		1,81	2,60	2,79	2,72		2,89	2,70		2,67
Aviar (tip aviar)	0,69	1,04	1,05		1,43	1,05	1,27	1,29		1,70	—		—
G 587 (tip murin)				0,15					0,59			1,14	

[1] Cifrele reprezintă greutatea în grame de bacili uscați pentru 100 ml de mediu.

cluzii similare ajunge și Szabo Szűcs (1956). In ceea ce privește tipul murin, el este dizgonic pe medii lichide și nu dă o cultură bună decît după mai multe treceri. Chiar în aceste condiții, cantitatea de bacili recoltată din 100 ml de mediu este redusă în comparație cu celelalte tipuri (Ionescu-Mihăești și col., 1956).

Proprietăți biochimice. Bacilul tuberculozei produce modificări în concentrația ionilor de hidrogen în mediul în care se multiplică. Mediile în care bacilul se multiplică suferă procese de alcalinizare sau acidifiere. Acidifierea rezultă din acțiunea bacilului asupra substanțelor ternare și în special asupra glicerinei. Alcalinizarea este o consecință a producției de amoniac care rezultă din descompunerea substanțelor cuaternare. Theobald Smith (1903) și după el și alți autori au afirmat că, din acest punct de vedere, tipul uman se deosebește de cel bovin și curba evoluției pH-ului unui mediu de cultură ar permite să se facă distincția între cele două tipuri; tipul bovin ar alcaliniza mediul ușor acid în care este însămînțat; tipul uman produce inițial o ușoară alcalinizare, însă mai tîrziu mediul se acidifică și final aciditatea lui este mai accentuată ca în momentul însămînțării. Stamatin, pentru a controla această afirmație, a însămînțat cele trei tipuri în Sauton cu albastru de bromtimol; lichidul, în momentul însămînțării, este albastru-verzui; cele trei tipuri într-un asemenea mediu, se comportă astfel: tipul aviar îngălbenește mediul, deci îl acidifică; tipul bovin produce variații de culoare puțin importante, menținînd constant lichidul în zona alcalină; tipul uman este inconstant. Majoritatea tulpinilor acidifică însă mediul. Modificările de pH par a fi mai curînd în legătură cu potențialul de multiplicare și asimilare a bacilului decît cu tipul căruia el aparține. Szabo Szücs (1956) afirmă că acidificarea mediului este produsă mai cu seamă de tulpinile umane virulente, în timp ce cele atenuate mențin mediul în zona alcalină. Tipul murin se comportă din acest punct de vedere ca și tipul bovin; el alcalinizează mediul și-l menține constant în zona alcalină (Ionescu-Mihăești și col., 1956).

Gosio afirmă că bacilul tuberculozei scindează, printr-o enzimă, arbutina (glucozid) într-un zahar de hidrochinonă; aceasta din urmă se oxidează și înnegrește mediul. Tipul bovin, după Gosio, desface mai repede arbutina ca tipul uman, mediul cu arbutina putînd servi la diagnosticul diferențial al celor două tipuri. Stamatin a verificat aceste date și nu le-a putut confirma.

Metabolismul bacilului. Nutriția bacilului tuberculozei a putut fi în parte studiată, ceea ce se datorește faptului că acest germen poate fi cultivat pe medii sintetice; fiecare component al mediului poate fi deci dozat înainte și după multiplicarea bacilului, determinînd astfel gradul de folosire a diverselor componente chimice. Glicerina constituie alimentul ternar esențial; în absența ei sau a substanțelor care o pot înlocui bacilul nu se multiplică. Concentrația optimă a glicerinei în mediu este de 2—5%. Jumătate din glicerina dezintegrată servește la sinteza materiilor grase și, în general, a cerii bacilare, cealaltă jumătate se descompune dînd naștere la CO_2. Proporția în care glicerina din mediu este folosită nu variază prea mult de la un tip de bacil la altul. In general, după o incubație de 90 de zile la 37°C, 75% din glicerina adăugată mediului este dezintegrată. Glucoza, maltoza și trehaloza pot înlocui glicerina. Levuloza, galactoza, lactoza și zaharoza nu sînt folosite decît într-o mică măsură și deci nu pot înlocui, în bune condiții, glicerina.

Schaefer (1948), folosind mediu Tween 80, observă că bacilul poate folosi și alte substanțe hidrocarbonate ca acetații, lactații și, într-o mai mică măsură, piruvații, substanțe care, în condiții obișnuite de dezvoltare, nu pot fi dezintegrate de enzimele bacilare.

Nevoile de azot sînt satisfăcute de acizii aminați și sărurile amoniacale. Arginina (acid diaminat), asparagina, leucina, alanina și histidina sînt aminoacizii care favorizează cel mai mult multiplicarea bacilului; triptofanul, fenilalanina, tirozina, și, în general, aminoacizii cu nucleu benzenic nu pot fi folosiți de bacili. Asparagina este cea mai bine folosită și datorită prezenței ei se obțin culturi așa de abundente pe mediul Sauton. Proporția în care aminoacizii din mediul Sauton sînt folosiți variază de la un tip de bacil la altul. Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1956) observă, în această privință că, tipul aviar a consumat, după o incubație de 75 de zile, 96% din aminoacizii inițial conținuți de mediu, tipul uman, după același interval de timp, numai 62%, iar tipul murin, după 90 de zile, numai 56%. Izvoarele minerale de azot — sărurile amoniacale — sînt slab utilizate și mediile care au aceste substanțe ca sursă unică de azot dau culturi foarte slabe.

Fosforul, potasiul și magneziul nu pot lipsi dintr-un mediu sintetic și nici nu pot fi înlocuite: sărurile de fier favorizează multiplicarea bacilului şi în prezenţa lor cantitatea de cultură obţinută este de 3 ori mai mare ca în absenţa acestor săruri. Concentraţia optimă de oxigen este de 50% ; într-o atmosferă pură de oxigen, bacilul nu se dezvoltă pe suprafaţa mediilor lichide, ci în profunzimea lor. În anaerobioză, sub un strat de ulei de parafină, se dezvoltă o membrană foarte fină care se strecoară pe lîngă pereţii vasului spre atmosfera bogată în oxigen. Dezvoltarea unei culturi este în legătură strictă cu consumul de oxigen. Bioxidul de carbon, într-o concentraţie de 3—6%, împiedică multiplicarea bacilului.

Capacitatea respiratorie a culturilor tinere este mai mare ca a celor bătrîne ; ea este, de exemplu, la tipul murin, de 521 mm^3O_2 g (greutate uscată) minut în culturile de 8 zile şi de 57 mm^3O_2 g minut în culturile de 90 zile (Ionescu-Mihăeşti şi col., 1956).

Aparatul enzimatic al bacilului este constituit din exo- şi endoenzime. În filtratele culturilor pe Sauton, Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii (1950) găsesc următoarele exoenzime : amidaze (asparaginaza, aspartaza şi ureaza), lipaze şi catalaze. Lipsesc zaharaza, maltaza, lactaza, hialuronidaza, timonucleaza, ribonucleaza, proteaza şi dehidraza. Autorii constată diferenţe importante de la un tip de bacili la altul în ceea ce priveşte bogăţia filtratelor în exoenzime. Filtratele tipului uman sînt calitativ şi cantitativ cele mai bogate, urmate fiind de B.C.G. şi tipul bovin. Tipul aviar nu pune în libertate, în medii, nici o exoenzimă şi filtratele culturilor sale sînt lipsite de orice activitate fermentativă.

Bacilii tuberculozei şi bacilii acidorezistenţi, în general, conţin, după Singer şi Cysner (1952), urează (amidază). Tacquet şi col. (1954) pun şi ei în evidenţă, prin diverse metode (Elek, Fergusson, Stuart şi Christensen), o activitate ureazică la unele tulpini de bacili ai tuberculozei, dar constată că multe tulpini — cele de tip bovin — precum şi unele tulpini rezistente faţă de INH (acidul izonicotinic) sînt lipsite de o asemenea acţiune. La tipul murin ureaza este, dintre toate amidazele acestui germen, cea mai activă (0,15—10 mg N liberat de 100 mg de corpi uscaţi şi 0,1—6 mg N liberat pentru 100 ml de filtrat, Ionescu-Mihăeşti şi col. 1956). Culturile tinere au o activitate ureazică mai mare ca cele bătrîne.

Rezistenţă. Rezistenţa bacilului tuberculozei faţă de diverşi agenţi fizici şi chimici a preocupat pe numeroşi cercetători, problema prezentînd o mare importanţă practică. Temperatura de 60°C omoară bacilul în 40 de minute, dar nu în 10 minute (Yersin, 1888), aceea de 70°C în 10 minute ; la 80°C bacilul se distruge în 5 minute, iar la 90°C în 1 minut. Rezistă mult timp la temperaturi scăzute ; bacilii vii şi virulenţi au fost găsiţi, de exemplu, în carnea ţinută 1 an la —5°. În lapte bacilii tuberculozei sînt omorîţi în 20 de minute la o temperatură de 60°C, cu condiţia ca laptele să fie într-un vas închis.

Într-un vas deschis, pelicula care se formează, apără germenii, aşa că unii pot rezista chiar 1 oră la 60°. Lumina solară directă este foarte activă ; în strat subţire, bacilii din spută se distrug, sub influenţa razelor solare, în 2 ore, cei din culturi, uscaţi pe hîrtie de filtru, în 2—10 minute. Lumina difuză este mai puţin eficace ; în camere închise, bacilii din spută nu mor decît după 3—4 luni. Formolul 0,01% şi sublimatul 1/1 000 distrug bacilul în 24 de ore. Fenolul, în concentrație de 0,5%, omoară bacilii în 30 de secunde, iar în concentrație de 0,1% în 1 minut.; în alcool absolut bacilii mor după 5 minute, iar în eter ei rezistă 5 minute, dar nu 10 minute (Yersin, 1888). Bacilii, înglobați în diverse secreții organice, rezistă mai mult la acțiunea antisepticelor ca bacilii din culturi. Ei rezistă pînă la 1 an în fecalele animalelor (Matveev), în pămînt și pe pășuni (Klimer), pînă la 5 luni în apă de izvor (Jușkoveț). Acizii și alcalii, chiar în concentrații mari, 10—40% acid sulfuric (Lövenstein, 1924), 4% hidrat de sodiu (Petroff, 1915) sînt inactivi. Rezistă 60 de minute într-o soluție 15% de acid lactic (Voiculescu, 1939).

Viabilitatea bacililor în culturi este remarcabilă ; tulpinile tipului aviar se transplantează curent după 1 an, la 37°C. Saenz a transplantat asemenea culturi după ce au stat 6 ani la întuneric și la temperatura camerei. Tulpinile tipurilor uman și bovin mor în cîteva luni pe mediile de cultură ; întreținerea acestor tulpini în laboratoare se face prin treceri lunare pe medii proaspete.

Compoziția chimică. Bacilul tuberculozei este constituit din apă, săruri minerale, substanțe lipidice și hidrocarbonate, protenie și nucleoproteine. Proporțiile acestor diverse componente în celulă pot fi găsite în tabelul 41.

Tabelul 41

Principalii componenți chimici ai bacilului tuberculozei (după date din literatură)

Apă	Săruri minerale	Glucide totale	Lipoizi			Protide
			uman	bovin	aviar	
În procente față de bacilii uscați						
83—88	0,36—5,32	6,50—24,60	40,0	13,4	15,26	31,7—55,6 În medie 50%

Bacilul tuberculozei, așa cum reiese și din tabel, se deosebește de alte bacterii prin bogăția sa în substanțe lipidice. Bacteriile neacidorezistente și chiar acidorezistenții saprofiți conțin, proporțional, mult mai puțin lipide, 7% *Bacillus anthracis*. 8,37% bacilul acidorezistent saprofit al lui Timothy. Variații cantitative importante, în ceea ce privește diverși componenți, se observă de la un tip de bacili la altul, precum și în raport cu mediul de cultură și vechimea culturii. Dăm, după Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950 și 1956), aceste variații în tabelul 42.

Natura diverșilor componenți chimici a fost cercetată de numeroși experimentatori.

Sărurile minerale. Cantitatea de săruri minerale conținute de bacilii tuberculozei variază, așa cum se vede și în tabelul 42 în raport cu tipul și vîrsta culturii.

Conţinutul în procente de săruri minerale, lipide totale, azot total şi glucide totale la

Vîrsta culturii	Cantităţi prezente în							
	Săruri minerale					Lipide		
	H.v*	B.v**	B.C.G.	Av.	M.***	H.v.	B.v.	B.C.G.
10 zile	4,88	2,80	2,90	3,23		24,70	31,20	34,79
31 zile	2,16	1,86	0,66	2,10	5,30 ****	29,10	33,80	15,18
46 zile	1,67	1,16	0,55	1,32		35,50	38,50	27,96
60 zile					5,32			
75 zile	1,99	1,33	0,73	—		21,20	30,15	29,78
90 zile					4,30			
100 zile	1,15	1,19	0,42	—		40,90	30,40	25,77

* H = bacili umani;
** B = bacili bovini;
*** M = murin
**** = după 30 de zile

Germenii din culturile vechi conţin mai puţine săruri ca cei din culturile tinere. De asemenea se constată variaţii şi în raport cu natura mediului de cultură (Boquet, 1935). Astfel, cantitatea de cenuşă pentru 100 g de bacili bovini este de 2,42 g în cazul cînd bacilii au fost cultivaţi în bulion glucozat şi glicerinat şi de 3,04 g cînd ei provin dintr-o cultură făcută în mediu sintetic (asparagină, glicerină, glucoză). În cenuşă se pot identifica următoarele elemente (Gores şi Liot, citaţi de Boquet, 1935) :

Na	11,6%
Ca	7,7%
K	7,7%
Mg	6,7%
P_2O_5	43,4%
SO_4H_2	22,8%
Fe	urme
Mn	urme
Z	urme

Lipoizii, cercetaţi cu deosebire de Anderson şi colaboratorii începînd din 1927, apoi de Bloch (1935) şi Macheboeuf (1937) sînt reprezentaţi prin acizi graşi saturaţi, grăsimi neutre, substanţe ceroase şi fosfatide. Sterolii nu fac parte din constituţia celulei acestui bacil. Ca acizi graşi saturaţi, se găsesc: acizii palmitic, tuberculostearic, ftioic şi linoleic. Acidul ftioic este constituit din două frac-

Tabelul 42

diversele tipuri de bacili ai tuberculozei, în raport cu vîrsta culturii și mediul Sauton

100 g bacili uscați									
totale		Glucide totale				Azot total			
M.	Av.	H.v.	B.v.	B.C.G.	Av.	H.v.	B.v.	B.C.G.	Av.
	23,32	14,00	19,15	18,03	18,10	17,18	6,42	6,20	5,64
22,60 ****	22,60	15,00	19,20	15,12	19,40	8,00	6,03	8,06	5,75
	18,90	11,60	22,40	13,37	20,00	7,70	5,44	6,40	6,90
26,57									
	—	11,10	23,25	14,72	—	10,00	5,58	5,97	—
24,50									
	12,80	6,50	26,00	12,60	—	8,00	5,41	6,40	—

Glucide totale la tipul murin:
30 zile = 19,20
60 zile = 14,50
90 zile = 22,10

Azot total la timpul murin:
30 zile = 6,53
60 zile = 6,02
90 zile = 6,70

țiuni: una dextrogiră, avînd formula brută $C_{26}H_{52}O_2$ și punctul de topire 20—21° și alta levogiră, avînd formula brută: $C_{30}H_{60}O_2$ sau $C_{31}H_{26}O_2$ și punctul de topire 48—50° Acidul tuberculostearic este un izomer al acidului stearic și este optic inactiv.

Extragerea lipidelor totale. Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950). pentru retragerea lipidelor folosesc procedeul de mai jos:

Corpii bacterieni sînt suspendați, timp de 7—8 săptămîni în alcool, apoi supuși, în aparatul Soxelet, la epuizări succesive întîi cu alcool de 96° (72 de ore), apoi eter sulfuric (72 de ore) și, în fine, cu un amestec constituit din alcool 96° (0,5), eter sulfuric (1,5), eter de petrol (1), cloroform (1), alcool metilic (1), tot 72 de ore. Cele trei lichide de extracție sînt evaporate pe baie de nisip și reziduurile rezultate sînt epuizate întîi cu eter sulfuric și apoi cu cloroform. Porțiunea, insolubilă în cei doi solvanți organici se solubilizează în apă. Se obțin astfel trei extracte, și anume:

1. extract eteric
2. extract cloroformic
3. extract apos

Alcoolul cu care bacilii au stat inițial 7—8 săptămîni este evaporat și reziduul epuizat, la fel ca mai sus, cu eter, cloroform și apă, iar produsele rezultate se adaugă respectiv fracțiilor de la 1, 2 și 3. Suma celor trei fracții constituie lipidele totale.

Grăsimile neutre, aşa cum reiese mai cu seamă din lucrările lui Anderson, nu sînt esteri ai glicerinei, ci ai unui alcool poliatomic. Ele au următoarele constante (după Kuzin)

Tabelul 43

Tipul bacilului	Temperatura de topire	Indicele de iod	Indicele de aciditate	Indicele de saponificare	Indicele de esterificare	Indicele Reichert	Părţi nesaponificabile
Uman	33	52,6	60,3	203,6	143,3	3,9	10,3
Bovin	38	48,4	117,5	171,2	53,7	4,1	9,7
Aviar	25	63,7	44,5	180,1	135,6	10,9	20,1

Substanţe ceroase se găsesc în proporţie de 5—10% din bacilii uscaţi şi ele condiţionează acidorezistenţa bacililor. Ele sînt insolubile în apă şi au următoarele constante (după Kuzin).

Tabelul 44

Tipul bacilului	Temperatura de topire	Activitatea optică	Conţinutul în procente	
			P	N
Uman	200—205	0,0	0,41	0,77
Bovin	47—54	+ 15,6	0,30	0,16
Aviar	54—55	+ 38,6	Urme	Lipseşte

Substanţele ceroase, prin hidroliză, dau acizi graşi superiori, alcooli, acizi cu geutate moleculară mare optic activi, hidraţi de carbon şi glicerină. Hidraţii de carbon, astfel separaţi, sînt solubili în apă şi dau reacţii specifice de precipitare cu serul respectiv.

Fosfatidele se găsesc la bacilii acidorezistenţi, în proporţie de 6,5%, faţă de 0,5—2% la bacteriile neacidorezistente. Ele sînt substanţe complexe, insolubile în acetonă şi apă; prin hidroliză pun în libertate substanţe glucidice. După unii autori fosfatidele bacilului tuberculozei nu conţin azot şi sînt acizi fosfatidici cu bază de acid glicerofosforic, inozitofosforic şi, probabil, glucidofosforic, combinaţii în esteri cu acizi graşi.

În afară de aceste lipide, solubile în solvanţi neutri mai există şi alte lipide, insolubile în solvanţi neutri, şi care, în celulă, sînt cuplate cu proteinele sau cu hidraţii de carbon. Aceşti lipoizi se găsesc în cantităţi însemnate în celula bacilului tuberculozei. Astfel, tipul uman conţine 12,2%, iar cel aviar 10,8% din greutatea bacililor uscaţi.

Bacilul uman conţine un pigment numit ftiocol şi care, din punct de vedere chimic, este o hidroxinaftochinonă. El se găseşte în fracţia lipidică solubilă în acetonă.

Substanțele hidrocarbonate pot fi libere în celulă sau cuplate, formînd complecși glico-lipidici. Un polizaharid liber a fost izolat de Hooper și colaboratorii (1934); el are o greutate moleculară de 9000 (Seibert și col., 1938). Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950) găsesc un polizaharid dializabil și altul nedializabil în filtratele culturilor din mediu Sauton. Cantitatea totală de polizaharizi (tuberculopolizaharizi), conținută de un filtrat, variază în raport cu tipul bacilului și cu vîrsta culturii. Tulpina de B.C.G. dă filtrate mult mai sărace în polizaharid decît tulpinile umane sau bovine virulente. Dăm, în tabel, după autori, cîteva rezultate.

Tabelul 45

Conținutul în polizaharizi a filtratelor culturilor de bacili ai tuberculozei

Vîrsta culturii	Miligrame polizaharid pentru 1 000 ml mediu			
	H 37 (uman)	Vallée (bovin)	B.C.G.	Murin
10 zile	0	0	0	
17 zile	67	17	10	
30 zile				79
53 zile	647	100	48	
60 zile				180
90 zile				275
105 zile	1470	680	83	

Pentru izolarea polizaharidului brut din filtrate, Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950) tratează mai întîi filtratele cu acid tricloracetic 4%, pentru a precipita proteinele, și apoi lichidul clar, care conține în soluție polizaharidele, este dializat față de apa curgătoare și apă distilată, filtrat prin Seitz E.K. și uscat la temperaturi sub 40°C. Reziduul este constituit dintr-o pulbere cristalină, ușor gălbuie, cu gust dulceag, solubil în apă, insolubil în alcool sau acetonă și reprezintă polizaharidul brut.

Polizaharidul brut, izolat din tulpini bovine, dă soluții opalescente, iar cel din tulpini umane, soluții limpezi. Intre cei doi polizaharizi există însă și alte deosebiri, în special în ceea ce privește activitatea optică, conținutul în azot, lipoizi, fosfor etc.

Polizaharizii, obținuți din substanțele ceroase, dau, prin hidroliză, manoză, d-arabinoză și galactoză.

In vederea extragerii glucidelor din corpii bacterieni aceștia sînt întîi uscați, apoi hidrolizați pe baie de apă cu o soluție normală de acid clorhidric. Glucidele în aceste condiții, trec și se găsesc în soluție. Concentrația lor în corpul bacilar variază în raport cu tipul și vîrsta culturii. La tipul murin, de exemplu, această variație este cuprinsă între 14,50 și 22,10 g la 100 g de bacili uscați (Ionescu-Mihăești și col., 1956). Cantități asemănătoare se găsesc și la bacili aviari și bacilii paratuberculozei.

Protide diverse au fost identificate în soma bacilului. Ele diferă chimic de la un tip la altul. Fracția protidică purificată, denumită PPD-b_3, pare răspunzătoare de activitatea alergică a tuberculinei; ea are greutatea moleculară 10 500, conţine 4,4% polizaharizi şi 12% acizi nucleici (Seibert şi col. 1941). Concentraţia proteinelor în soma bacililor variază în limite largi, în raport cu tipul şi vîrsta culturii — 31,7 — 35,7 pentru tipul murin, de exemplu. Aproximativ, aceleaşi cantităţi se găsesc şi la bacilii bovini.

In filtratele culturilor de bacili ai tuberculozei, în mediul Sauton, Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii (1950) găsesc o tuberculoproteină nedializabilă, care precipită prin acid tricloracetic 4% şi se solubilizează într-o soluţie n/1 de NaOH. Bacilii umani, spre deosebire de cei bovini şi aviari, conţin, în plus, o proteină care precipită după dializa filtratului de cultură şi care nu se solubilizează decît la pH = 10. Tuberculoproteinele comune celor trei tipuri de bacili sînt asemănătoare între ele şi conţin 87 — 96% proteine, 5,5 — 11,5% polizaharizi şi 14 — 15% azot total. Spre deosebire însă de tuberculoproteina izolată de Seibert din corpii bacilari, tuberculoproteinele izolate din filtrate nu conţin acizi nucleici. Cantitatea de tuberculoproteină variază în raport cu tipul bacilului şi cu vîrsta culturii. Dăm, după Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii (1950) cîteva cifre.

Tabelul 46

Conţinutul în proteine al filtratelor din culturile, pe mediul Sauton, ale bacililor tuberculozei

Vîrsta culturii	miligrame proteină, la 100 ml mediu		
	H 37 (umană)	Vallée (bovină)	B.C.G.
10 zile	0,0	0,0	0
17 zile	22,5	14,0	10
53 zile	119,0	284,0	257
105 zile	115 { 45 solubilă * 70 insolubilă	225	254

* In filtratele culturilor de bacili umani se găsesc două proteine: una rămîne în soluţie după dializă, şi este solubilă la pH = 7,0, alta precipită după dializă la pH = 7,0, dar este solubilă la pH = 10.

Bacilul murin eliberează puţine tuberculoproteine, 1,4 mg%; bacilii acidorezistenţi saprofiţi dau cantităţi ceva mai mari, 4,30 — 34,5 mg%, incomparabil însă mai mici ca bacilii tuberculozei.

Acizii nucleici prezenţi la bacilii tuberculozei, au o concentraţie care variază de la un tip de bacil la altul; astfel, la bacilii de tip uman sau de tip bovin, precum şi la saprofiţii acidorezistenţi concentraţia lor variază de la 1,5 la 4,5 g% bacili uscaţi; B.C.G. conţine 4,70 — 6,50 g%, iar tipul murin 5,46 — 9,0%. Cea mai mare concentraţie se găseşte la tipul murin (Ionescu-Mihăeşti şi col., 1956).

Acidul ribonucleic este prezent în cantitatea cea mai mare la tipul murin (1,45 g% la germenii din culturi de 30 de zile şi 5,05 g% la cei din culturi de 90 de zile şi mai mică la bacilii umani sau bovini (1,09—1,77 g%).

Acidul dezoxiribonucleic se găseşte în cantităţi mari la tipul murin (4,01—4,10 g%) şi mai mic la ceilalţi bacili.

Structura antigenică. Cele trei tipuri de bacili ai tuberculozei nu sînt imunologic distincte. Cercetările experimentale au arătat că animalele de laborator pot fi imunizate cu un tip față de celălalt tip. Astfel, bacilii bovini imunizează cobaii față de bacilii umani. Chiar bacilii aviari, care sînt așa de diferiți de cei ai mamiferelor, conferă cobaiului o stare de rezistență față de bacilii umani sau bovini. Folosirea, pe o scară largă, ca material vaccinant, a B.C.G.-ului, a arătat de asemenea că bacilii bovini (B.C.G. este un bacil bovin) imunizează omul față de bacilii umani.

Bacilii tuberculozei conțin substanțe serologic active. Într-adevăr, atît în infecțiile spontane, cît și în cele experimentale se găsesc, în sîngele organismelor infectate, anticorpi aglutinanți, precipitanți și fixatori.

Antigenii, care duc la apariția acestor anticorpi, nu au putut fi izolați și identificați din punct de vedere chimic, dar haptene, active serologic, in vitro au putut fi de mult timp identificate. Astfel, Boquet și Négre au izolat o asemenea haptenă (antigenul metilic), de natură lipoidică, care fixează anticorpii sensibilizanți din serurile tuberculoase, haptena fiind folosită ca antigen pentru reacția de fixare a complementului. Haptene polizaharidice au fost puse în evidență de numeroși cercetători, Schaefer (1940) identifică în filtratele culturilor de bacili ai tuberculozei doi asemenea poliosizi de specificitate diferită: unul complet, care precipită o dată cu proteinele, în prezența acidului tricloracetic; celălalt rămîne în lichid, după precipitarea proteinelor, și este precipitat prin alcool de 75—85%. Ambii poliosizi sînt floculați de serurile imune. Haptene proteidice au fost izolate de Heidelberger și Menzel, care identifică trei asemenea fracții distincte serologic.

Aceste diverse substanțe sînt lipsite de specificitate. Haptena lipoidică, ca și haptenele poliozidice, se găsesc și la alți bacili acidorezistenți, în afara bacililor tuberculozei. Proteidele cercetate de Heidelberger și Menzel sînt comune tipului uman și bovin și nu permit identificarea tipului unui bacil.

Diferențierea tipurilor, prin mijloace serologice, a preocupat pe cercetători, ea prezentînd o deosebită importanță practică. Cercetările întreprinse în această direcție de Wilson, Griffith și alții au arătat că bacilii aviari pot fi deosebiți serologic de bacilii mamiferelor, ei conținînd antigeni specifici. Într-adevăr, un ser imun, preparat cu bacili aviari, nu poate fi total epuizat de aglutininele sale prin bacili umani sau bovini; un asemenea ser conține deci aglutinine pentru toate tipurile de bacili, dar epuizat de aglutininele heteroloage prin bacili umani sau bovini devine specific, aglutinînd bacilii aviari și numai pe aceștia.

Bacilii umani însă nu pot fi deosebiți de cei bovini prin seroaglutinare; un ser preparat cu bacili bovini aglutinează, în aceleași condiții, bacilii umani sau bovini. Precipitarea pare a da rezultate mai bune; astfel, un ser preparat pe iepure, cu protidele bacilului uman, precipită aceste protide la diluții mari — 1/40 000 sau mai mult — dar este inactiv față de protidele bacilului bovin. Serul, preparat cu protide provenind de la bacili bovini, este foarte activ față de protidele acestui bacil și puțin activ față de cele ale bacilului uman. Schaefer (1940), ocupîndu-se de aceeaşi problemă, arată că cei doi bacili pot fi deosebiţi şi prin reacţia de fixare a complimentului, deoarece un ser preparat pe iepure sau cal, prin injecţia unei tulpini bovine S, fixează alexina numai în prezenţa bacililor bovini patogeni S sau R, dar nu în prezenţa bacililor umani. Antigenul care duce la apariţia acestui anticorp sensibilizat este de natură protidică şi se găseşte ca antigen complet numai în formele S ale bacilului bovin; formele R, deşi fixează anticorpul in vitro, nu-l produc cînd sînt inoculate la animalele de experienţă. Bacilii bovini S au deci, în raport cu bacilii umani, un antigen în plus. Prezenţa acestuia permite diferenţierea celor două tipuri prin reacţia de fixare a complimentului.

Schaefer (1947) afirmă că diferenţierea se poate face şi prin reacţia de seroprecipitare. Precipitinogenul se obţine astfel: 100 mg de bacili se pun în suspensie în 2 ml de apă fiziologică; se adaugă 0,5 ml de acid clorhidric n/5 şi amestecul se încălzeşte 15 minute într-o baie de apă, la fierbere; suspensia se agită cît mai frecvent în timpul încălzirii. Apoi se răceşte, se neutralizează şi se centrifughează. Lichidul obţinut serveşte la executarea reacţiei de seroprecipitare. Cînd bacilii sînt de origine bovină, la nivelul de separare a lichidului de ser se constituie, în 2—5 minute, un inel de precipitare. Inelul lipseşte sau se formează tîrziu, cînd bacilii au altă origine. Serul precipitant se obţine pe iepure, injectîndu-se subcutan 100 mg de bacili bovini, cîntăriţi după uscare, omorîţi prin încălzire de 1 oră la 80°C şi puşi în suspensie în ulei de parafină. La unii iepuri anticorpii apar după 3—4 săptămîni de la această primă injecţie; la alţii injecţia trebuie repetată, în aceleaşi condiţii, sîngerarea făcîndu-se 10 zile după ultima injecţie.

In cadrul bacililor tuberculozei aviare s-au putut distinge şi unele tipuri serologice (Furth, 1926; Schaefer, 1937). Aceste tipuri — trei pînă în prezent — au o structură antigenică parţial şi nu total deferită, astfel că un ser preparat cu un tip aglutinează germenii celorlalte tipuri şi chiar unele tulpini izolate de la mamifere. Un asemenea ser epuizat însă cu o tulpină aviară heterologă este activ numai faţă de tipul homolog, devenind astfel specific.

O serie de cercetători (Middlebrock, 1950) au arătat că bacilul tuberculozei conţine un polizaharid care se fixează pe globulele roşii şi le sensibilizează fie faţă de aglutinine, fie faţă de sensibilizatricea din serul tuberculoşilor (Ionescu-Mihăeşti şi col., 1956). Globulele roşii de oaie care au fixat polizaharidul pot fi aglutinate de un ser provenind de la un tuberculos sau pot fi hemolizate, în prezenţa alexinei, de acelaşi ser. Această constatare şi-a găsit aplicaţia în diagnosticul tuberculozei la om şi animale.

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Toxicitatea diverselor componente bacilare. Bacilul tuberculozei are în componenţa sa, substanţe toxice intim legate de celula bacteriană, dar care trec şi în mediile de cultură în urma proceselor de autoliză. Prin asemenea procese se pot pune în libertate atît protidele bacilare, cît şi granulațiile cromofile conținute de bacili. Toxicitatea acestor din urmă formații a fost cercetată constatîndu-se că ele exercită o acțiune toxică și sensibilizantă importantă. Ele au aceleași proprietăți ca și bacilii totali morți și se pot obține fie tratînd bacilii cu ClH, fie prin autoliză prelungită. Astfel, în balonul în care s-a produs autoliza se găsește un depozit constituit din aceste granule și din resturi de bacili. Depozitul, în vederea izolării granulelor, se ia cu apa, se centrifughează pentru a elimina corpii bacterieni; Lichidul de centrifugare este de culoare albicioasă și el conține granule în suspensie (antigenul granular). Acest antigen conține 25—50% lipide. Se poate delipida prin dioxan și eter (succesiv). Produsul fără lipide conține 12—13% azot; nu are acid nucleic, dar conține zahăr reductor 10%. Granulele par a fi constituite deci din molecule glucidoproteice. Total delipidate ele conservă proprietatea de a produce leziuni specifice, de a sensibiliza animalele la tuberculină și de a provoca reacții alergice la animalele tuberculoase.

Folosind acțiunea pepsinei, Maigon extrage din bacilii morți, peptone, nucleoproteide și fosfatide. În condiții experimentale, peptonele produc o rărire remarcabilă a ritmului bătăilor cordului, ceea ce se datorește excitării parasimpaticului, iar nucleoproteidele și fosfatidele provoacă hipertermie, fibrozarea și necroza țesuturilor.

Deinse și colaboratorii (1948) observă că bacilii umani sau bovini, omorîți prin căldură, puși în suspensie în apă distilată și conservați la 37°C, suferă procese de liză. Lizatul obținut, după o conservare de 3—6 luni la 37°C, injectat pe cale intravenoasă la iepure, produce o monocitoză, care este evidentă 24 de ore după administrare, dar care este trecătoare. Sabin și colaboratorii (1938) au urmărit activitatea patogenă a diverselor fracții extrase din bacili pe cale chimică. Polizaharizii produc aflux leucocitar (neutrofile) la locul de injecție, iar fosfatidele par a fi răspunzătoare de neutrofilia care se observă în prima fază a infecției tuberculoase. Fosfatidele, gliceridele, acizii ftioici produc, la animalele de experiență, reacții tisulare (proliferarea monocitelor, apariția epitelioidelor și celulelor gigante care se aseamănă cu cele întîlnite în procesul infecției tuberculoase). Acidul tuberculostearic este lipsit însă de orice proprietate toxică.

Protidele, așa cum rezultă din experiențele întreprinse de foarte numeroși cercetători, sînt însă răspunzătoare, în cea mai mare parte, de toxicitatea bacilului tuberculozei, activitatea lor toxică depășind, într-adevăr, cu mult pe a celorlalte extrase bacilare. S-au folosit, pentru asemenea studii, atît protidele izolate din corpi bacterieni, după extragerea lipidelor, cît și cele obținute din filtratele culturilor de bacili pe medii sintetice. Protidele insolubile în apa neutră sînt cele mai toxice și ele produc modificări tisulare, cu un grad însemnat de specificitate.

Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1950 și 1956) cercetează activitatea, in vivo a tuberculoproteinei izolate din filtratele culturilor pe mediu Sauton. Injectată, la iepure, pe cale intradermică, în doză de 2 mg, substanţa produce un proces inflamator, cu participarea leucocitelor polinucleare şi a aparatului histiocitar. Pe cale intravenoasă, la acelaşi animal, tuberculoproteina produce leucopenie (limfo- şi polinuclearopenie) periferică, urmată, în cazul cînd animalul rezistă intoxicaţiei, de leucocitoză. Autorii constată mai departe că numărul leucocitelor polinucleare creşte mult mai repede ca cel al limfocitelor. De regulă, limfopenia se menţine un timp mai îndelungat, iar la animalele care nu supravieţuiesc ea se menţine pînă la moartea animalului. Produsul se comportă, în linii generale, ca şi nucleoproteinele izolate de la pasteurele, colibacili şi alte specii Gram negative. Tuberculoproteina, izolată de Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii, este mult mai toxică pentru animalele tuberculoase decît pentru cele normale. Astfel, pe cale intracerebrală, ea omoară cobaiul tuberculos în doză de 0,1 mg. Tuberculoproteina, izolată de Seibert din corpii microbieni, sensibilizează cobaii. Lewis şi Seibert (1931) constată că animalele (cobaii), injectate pe cale intraperitoneală cu 0,1—1,5 mg de tuberculoproteină, fac un şoc anafilactic în cazul reinjecţiei aceleiaşi substanţe pe cale intravenoasă. Serul animalelor astfel sensibilizate transmite pasiv această stare la animalele normale.

Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii (1956), considerînd, din punct de vedere patogenetic, modul de acţiune a tuturor fracţiilor chimice extrase din bacilii tuberculozei, afirmă că tuberculoproteina reprezintă compusul cel mai toxic şi cu cea mai puternică acţiune alergizantă, fracţiile polizaharidice sînt produse lipsite de toxicitate, dar ele conferă infecţiei specificitatea antigenică şi, în fine, lipidele sînt răspunzătoare de aspectul caracteristic al leziunii tuberculoase (tuberculomul şi caseificarea) şi conferă bacilului rezistenţa faţă de echipamentul enzimatic al leucocitelor. Această din urmă acţiune a lipidelor poate fi considerată de tip agresinic.

Toxicitatea bacililor morţi. Bacilii morţi sînt toxici pentru toate animalele sensibile la tuberculoză, în afară de şobolan şi şoarece. Calea intracerebrală este cea mai propice determinării toxicităţii bacililor morţi; corpii microbieni ai unor tulpini, în doză de 1 mg, omoară, pe această cale, cobaiul în 6—13 ore. Pe cale subcutană, suspensiile, în apă fiziologică, de bacili morţi, produc un nodul local. Cantităţile mari de bacili morţi sensibilizează cobaiul la tuberculină; această sensibilitate dispare însă destul de repede; viteza dispariţiei este în funcţie de doză. Coulaud (1923) a arătat că leziunile provocate de bacili morţi sînt mult mai întinse dacă aceştia sînt înglobaţi în parafină, în ulei de parafină sau în alte produse asemănătoare (ceară de albine, vaselină etc.). Injecţiile subcutane şi mai ales intratesticulare, făcute cu un asemenea amestec, produc leziuni locale, ganglionare şi pulmonare; în acest din urmă organ se constituie noduli epitelioizi, asemănători celor ce se găsesc în infecţia cu bacili vii şi virulenţi. In centrul nodulului, bacilii morţi sînt înglobaţi în produsul de asociaţie parafină, ceară de albine etc. Leziunile pulmonare, produse de fiecare tip, sînt comparabile cu cele pe care le produc bacilii vii ai fiecărui tip. Animalele cu asemenea leziuni reacţionează la tuberculină şi au un grad oarecare de rezistenţă faţă de infecţia tuberculoasă.

TUBERCULINA

Tuberculina este un produs biologic, mai mult sau mai puţin purificat, obţinut, de regulă, din culturile pe medii lichide ale bacilului tuberculozei şi care are proprietatea de a provoca, în cazul administrării, pe anumite căi şi în anumită doză, la organisme tuberculoase, reacţii de tip alergic. Această proprietate face ca produsul să aibă largi utilizări în diagnosticul tuberculozei la animale şi în unele condiţii şi la om. Tuberculina are chiar pentru animalele normale un grad oarecare de nocivitate şi de aceea cercetăm acest produs legat de toxicitatea bacilului tuberculozei.

Tuberculina a fost descoperită de Robert Koch în 1890. Autorul a ajuns la acest produs studiind acţiunea bacililor morţi asupra organismelor infectate. Koch a constatat, în cursul acestor studii, că bacilii morţi sînt mult mai toxici pentru animalele tuberculoase decît pentru cele normale. Acestea din urmă, într-adevăr suportă, fără tulburări, doze importante de bacili, în timp ce animalele tuberculoase, chiar în urma injectării, pe cale intradermică, a unei doze mici, fac, la locul de inoculare, un edem, urmat eventual de necroză şi escară. Repetînd injecţiile de bacili morţi, în doze mici, la animale infectate, Koch a observat o ameliorare în starea lor generală, ceea ce l-a făcut să creadă că bacilii morţi ar putea fi folosiţi în tratamentul tuberculozei evolutive a omului. Aplicaţiile practice nu au dat însă rezultatele aşteptate.

Koch prepară suspensiile de bacili morţi, în vederea tratamentului, în felul următor: bacilii se însămînţau în bulion glicerinat; după o incubaţie de 6—8 săptămîni, cînd membrana de la suprafaţă începe să se desfacă, cultura era evaporată pe o baie de apă la fierbere şi volumul iniţial redus la 1/10. Lichidul obţinut era de culoare brună, de consistenţă siropoasă (conţinea aproximativ 50% glicerină) şi constituia, ceea ce se cunoaşte şi astăzi, sub numele de *tuberculină brută* sau *veche* a lui Koch, căreia, în urma cercetărilor ulterioare i s-au dat largi întrebuinţări, nu în tratamentul tuberculozei, aşa cum credea iniţial Koch, ci în diagnosticul tuberculozei la om şi animale.

Valoarea de diagnostic a tuberculinei a fost recunoscută chiar de Koch, care în 1890 se exprimă astfel asupra acestei probleme: „De astăzi înainte se va putea recunoaşte tuberculoza încă de la început. Intr-un moment cînd nici examenul fizic, nici prezenţa bacililor nu pot să dea nici o indicaţie“ (citat după Nocard, 1892).

Această recunoaştere era posibilă datorită faptului că oamenii infectaţi reacţionează prin febră la inocularea tuberculinei. Primul care verifică această afirmaţie a lui Koch pe animale este medicul veterinar Guttmann (1890) de la Dorpat din Rusia. Autorul, inoculînd doze diferite de tuberculină (1,2 şi 3 decigrame de tuberculină diluată în proporţie de 1/9 în apă fenicată 0,5%) la trei vaci cu tuberculoză clinică, observă că toate aceste animale au reacţionat prin febră, care a apărut după 11—12 ore de la inoculare, a depăşit cu 1—3°C temperatura normală şi a durat în medie 10 ore. Un taur normal injectat cu 3 dg de tuberculină nu a reacţionat febril. Aceste prime cercetări au fost urmate de altele, demonstrîndu-se astfel, în mod definitiv, valoarea de diagnostic a tuberculinei.

Proprietăţi biologice. Tuberculina brută, aşa cum era preparată de Koch şi cum se prepară încă în majoritatea ţărilor, este practic lipsită de toxicitate pentru animalele normale. Astfel, un cîine suportă pînă la 28 ml, iar un cobai pînă la 20 ml, fără a prezenta modificări în starea lor generală. Injectată, pe cale subcutantă, la cobai tuberculoşi, în doză de 0,01 ml, ea le poate provoca, însă, aşa cum a observat tot Koch, moartea în cîteva ore. La autopsie se constată edem şi cianoză locală, leziuni hemoragice punctiforme în rinichi şi splină, congestii vizibile, mai ales microscopic, în jurul leziunilor tuberculoase. Injectată, în doze mici, pe cale intradermică, tot la cobai tuberculoşi, ea produce local o reacţie de tip alergic; în aceste condiţii, cîteva ore după injecţie apare, local, o congestie urmată de un edem, în care se găsesc globule roşii şi albe; în 12—24 de ore se constituie o papulă roşie, cîteodată echimotică. Reacţia atinge intensitatea maximă după 30—40 de ore; ea se prezintă, după acest interval de timp, ca o placă dură de dimensiuni variabile (în medie 2-3 cm); pielea, care acoperă leziunea, poate fi roşie sau violacee, cu centrul palid, livid, necrotic. Pielea, în cazul cînd leziunea se necrozează, se elimină, şi vindecarea completă a ulcerului constituit se face în cîteva săptămîni. Leziunea locală, în cazul injecţiei intradermice, este însoţită de reacţii focale (congestii în jurul leziunilor tuberculoase constituite) şi reacţii generale, ca anorexie, tristeţe, slăbire etc. Injectată pe cale intravenoasă sau intraperitoneală tuberculina omoară cobaiul tuberculos în 12—24 de ore, moartea fiind precedată de o perioadă de hipotermie. Doza mortală de tuberculină este, în aceste cazuri, mică şi variază de la o tuberculină la alta, 0,1—0,3 ml. În aceste doze, tuberculina este inofensivă pentru cobaii normali şi chiar pentru cei sensibilizaţi cu bacili atenuaţi (B.C.G.) sau morţi.

Tuberculina injectată pe cale dermică produce reacţii specifice şi la iepurii tuberculoşi. Şobolanii sau şoarecii tuberculoşi nu reacţionează, de regulă, la injecţii intradermice de tuberculină. Inoculată pe cale intravenoasă, tuberculina pare că se păstrează mult timp în sînge. Slătineanu şi Ionescu (1908) o găsesc, de exemplu, în sîngele unei capre inoculată 12 zile mai înainte cu 10 ml tuberculină brută.

Omul, în general, şi cel tuberculos în special, este sensibil faţă de acţiunea toxică a tuberculinei. Copiii de curînd născuţi şi care nu au fost în contact cu bacilul tuberculozei sînt însă destul de rezistenţi şi suportă 1 ml de tuberculină fără tulburări manifeste. Adulţii, clinic sănătoşi, însă sensibilizaţi faţă de bacilul lui Koch, injectaţi cu o doză relativ mică de tuberculină, 0,01 ml prezintă uşoare tulburări locale şi generale. Aceeaşi doză produce însă tulburări generale evidente la persoanele cu tuberculoză evolutivă. Tulburările generale constau din febră, dureri de cap, vărsături, dispnee, tuse etc. În doză mică, 0,1 dintr-o diluţie de 1/1 000—1/5 000, tuberculina produce reacţii locale şi generale, de tip alergic la oamenii tuberculoşi.

Tuberculina nu sensibilizează animalele. Injectată în repetate rînduri la cobai, aceştia nu devin, într-adevăr, sensibili şi nu produc reacţii de tip alergic, la o ulterioară injecţie de tuberculină.

O modificare a reactivităţii organismelor injectate cu tuberculină pare totuşi că se produce. Slătineanu şi Danielopolu (1908, 1909) observă, în această privință, că animalele normale (cobaii) injectați întîi cu tuberculină brută (0,1—1 ml) pe cale subcutană și 5—9 zile mai tîrziu cu suspensii de bacili ai tuberculozei pe cale subcutană sau intracerebrală prezintă reacții termice în cazul inoculării subcutane și fenomene de șoc în cazul inoculării intracerebrale. În cazul inoculării intracerebrale a bacililor tuberculozei, cobaii mor în cîteva ore. Cobaii sensibilizați cu tuberculină și infectați, cel mai devreme după 5 zile, cu bacili, pe cale subcutană, fac o tuberculoză care evoluează foarte repede, producînd moartea animalului în 18—20 de zile.

În raport cu bacilii morți și chiar cu protidele bacilare, tuberculina, deși conține cadavrele corpilor microbieni, pare lipsită de proprietăți alergizante, ceea ce s-ar datori, după Seibert, faptului că ea este încălzită la temperaturi ridicate (sterilizate la 120°C, la autoclav).

Natura substanței alergizante. Boquet, Sandor și Schaeefer (1937) au încercat, dar nu au reușit, să alergizeze cobaii normali cu diverse fracții protidice izolate din bacilii tuberculozei și care produceau reacții la animalele tuberculoase. Ei ajung la concluzia că principiul alergisant se găsește în bacili sub forma unui complex antigenic foarte labil și, în consecință, nu poate fi izolat ca atare. Unele protide bacilare, administrate în doze mari (30 mg, ceea ce ar corespunde la 60 ml de tuberculină brută) pot însă sensibiliza cobaiul și pot duce la apariția unor anticorpi. Elek și colaboratorii (1954), folosind reacția de hemaglutinare Middlebrook-Dubos, descoperă, de exemplu, asemenea anticorpi la bovinele injectate cu tuberculină. Smith și Scott (1950) obțin rezultate similare la om, dar faptul nu este confirmat de Schier (1950). În tuberculină există deci, după aceste cercetări, principii antigenici, dar nu alergizanți. Complexul alergisant a fost identificat de Raffel (1949) și el este reprezentat, după autor, printr-un complex chimic constituit din ceara bacilară purificată și tuberculoproteina. Aceste două componente, izolate pe cale chimică din bacili, nu alergizează animalele cînd sînt inoculate separat, dar duc la acest rezultat cînd sînt inoculate împreună. De altfel, același autor a mai constatat că bacilii din care s-a extras ceara pierd proprietățile alergizante.

Utilizările practice ale tuberculinei. Tuberculina se întrebuințează ca mijloc de diagnostic al infecțiilor tuberculoase la om și animale (mamifere și păsări). Pentru diagnosticul tuberculozei la păsări se folosește tuberculina extrasă din bacili aviari, iar pentru mamifere una obținută din bacili umani sau bovini. Bacilii umani sau bovini dau un produs de activitate egală, în sensul că indivizii infectați cu tipul uman nu reacționează mai intens la tuberculina umană ca la cea bovină și invers. Totuși, cele două tuberculine nu sînt total identice. Lewis și Seibert (1931) le disting pe cobai prin anafilaxie încrucișată, într-adevăr, cobaii sensibilizați cu tuberculină umană fac, așa cum comunică autorii, șoc anafilactic în cazul reinjectării aceleiași tuberculine, dar nu reacționează cînd li se administrează tuberculina bovină. Complexul alergizant al tipului uman este deci diferit de al tipului bovin. De asemenea, cercetările făcute de Ionescu-Mihăești și colaboratorii (1937) sprijină acest punct de vedere. Autorii au izolat, din bacilii tuberculozei, substanțe poliosidice lipsite de antigenitate, dar capabile să provoace reacții alergice specifice la indivizii tuberculoși, și anume: indivizii infectaţi cu tipul uman reacţionează numai cînd sînt inoculaţi cu substanţa extrasă din bacilii umani şi cei cu tip bovin cu substanţele extrase din acest tip. Deşi aceste cercetări demonstrează neidentitatea celor două tuberculine, practic, pentru descoperirea infecţiilor cu bacili umani sau bovini, se foloseşte una sau alta din cele două tuberculine sau amestecul lor.

Tulpinile folosite pentru prepararea tuberculinei. Tuberculina se prepară folosind tulpini de laborator, în faza R, adaptate cultivării pe medii lichide şi care dau, pe aceste medii, culturi abundente, în timp de 10—12 săptămîni. Tulpinile umane se adaptează repede cultivării pe medii lichide, în schimb cele aviare şi mai ales cele bovine nu dau culturi acceptabile decît după ce au fost trecute pe cartof timp de ani de zile. Pentru prepararea tuberculinei bovine se folosesc, în cele mai multe institute, tulpinile Vallée sau B.C.G. Tulpinile atenuate, cum este, de exemplu, tulpina B.C.G., dau un produs tot aşa de activ ca şi cele virulente. Mai mult încă, Szabó Szücs (1956) afirmă că tulpinile atenuate dau un produs mai activ, din cauză că ele, în general, se dezvoltă mai abundent şi există o relaţie între cantitatea de germeni şi bogăţia mediului în principii revelatori. În plus, ele pot fi manipulate fără prea multe precauţii în laborator, neputînd infecta omul, şi, de asemenea, aceste tulpini nu produc acizi, ceea ce ar contribui la îmbogăţirea mediului în substanţe alergizante, dat fiind că acizii alterează aceste substanţe.

Mediile folosite pentru prepararea tuberculinei. Koch a folosit iniţial bulionul glicerinat 5%, în scopul cultivării bacilului tuberculozei şi preparării consecutive a tuberculinei. El şi-a dat seama că tuberculina obţinută în aceste condiţii conţine numeroase substanţe de balast, inactive din punct de vedere al diagnosticului, şi a încercat, pe de o parte, izolarea substanţei active, iar, pe de altă parte, înlocuirea bulionului glicerinat cu un mediu sintetic. Aceste încercări făcute în ultimii ani ai vieţii nu au lăsat urme în practică şi mult mai tîrziu (Dorset, 1934 şi alţii) pun în practică prepararea unei tuberculine din culturi pe medii sintetice, folosindu-se, în special, în acest scop, mediul Sauton sau mediul Dorset. Tuberculina obţinută din aceste culturi nu mai conţine albumoze, dar are destule substanţe străine — aminoacizi — în concentraţii destul de mari. Tuberculina fără albumoze este socotită de unii autori superioară celei cu albumoze, dar acest punct de vedere nu este acceptat de toţi cercetătorii. Eissner (1950), de exemplu, socoteşte că tuberculina fără albumoze nu prezintă nici un avantaj în raport cu tuberculina veche a lui Koch. Un pas important în rezolvarea problemelor legate de obţinerea unui produs de o cît mai mare specificitate s-a făcut prin izolarea substanţei revelatoare, în stare pură, din tuberculină sau bacilii tuberculozei.

Natura substanţei revelatoare. *Tuberculine purificate.* Cercetările lui Long şi Seibert (1926), Boquet şi colaboratorii (1937), precum şi Laporte (1944) au dovedit că principiul revelator activ din tuberculină este de natură protidică. Long şi Seibert precipită acest principiu din filtratul culturilor de pe mediul Sauton printr-o soluţie 3% de acid fosfotungstic în mediu sulfurat; Boquet şi colaboratorii prin saturare cu sulfat de amoniu. Laporte (1944), în scopul obţinerii principiului activ, solubilizează bacili prin autoliză și apoi de aici îl precipită. Pentru a realiza autoliza, culturile centrifugate și spălate sînt supuse acțiunii vaporilor de toluen; aceștia omoară germenii, dar nu distrug fermenții bacterieni; sub acțiunea fermenților, celula moartă este dezintegrată și principii capabili să producă reacții de tip alergic la animalele tuberculoase sînt puși astfel în libertate.

Protidele izolate prin aceste diverse procedee sînt cristalizabile, necoagulabile prin căldură și precipită în prezența acidului tricloracetic și, mai ales, a acidului fosfotungstic. Ele nu se găsesc în culturile de 10 zile, dar încep să apară după o incubație de 17 zile și ating o concentrație maximă în culturile de 3 luni. Autoliza culturilor vechi de 1 lună, după omorîrea bacililor prin toluol, dă un lichid tot așa de bogat în protide revelatoare ca și culturile de 3 luni.

Plecîndu-se de la aceste cercetări, în S.U.A. Seibert și colaboratorii (1928—1934) au obținut un produs revelator activ cunoscut sub numele de P.P.D. (purified protein derivativ). Acest preparat ar da mai puține reacții nespecifice și este preferat, în unele țări, tuberculinei brute a lui Koch și chiar tuberculinei preparate din culturi pe medii sintetice (tuberculina fără albumoze). Din punct de vedere chimic, produsul P.P.D. conține pe lingă proteine și cantități reduse de polizaharizi și acizi nucleici. Seibert și Glenn (1941) au reușit să purifice produsul de aceste din urmă substanțe, obținînd un preparat îmbunătățit numit P.P.D.S. Preparate purificate au fost obținute de asemenea în Ungaria (Vásárhelyi și Gösz, 1939) și Anglia, unde Green (1946, 1951) prepară tuberculina purificată Weybridge pentru uz veterinar. După cercetările lui Green tuberculina purificată conține 90% protide specifice și poate fi stantardizată precis prin dozarea azotului; în plus, folosirea ei în diagnosticul tuberculozei la animale dă rezultate mult mai bune ca celelalte tuberculine. La aceleași concluzii ajunge și Götze (1951) care de asemenea consideră tuberculina purificată superioară tuturor celorlalte tuberculine. Produsul, în comparație cu tuberculina brută, este însă mai sensibil la acțiunea diverșilor factori de mediu și în cazul unei conservări necorespunzătoare el se poate degrada, ceea ce desigur constituie un grav impediment. Pentru acest motiv, acest produs nu a fost încă adoptat în unele țări, cum este de exemplu, Franța (Vuillaume, 1955).

Titrarea tuberculinei. Tuberculina, pentru a putea fi utilizată cu succes la descoperirea infecțiilor tuberculoase, trebuie să aibă o anumită valoare revelatoare. Această valoare se determină prin diferite procedee și se poate exprima în unități.

Procedeul german. Cobaii de 350 g greutate se infectează subcutan sau intraperitoneal cu aceeași doză de bacili virulenți, în general 1,5 mg; 3—4 săptămîni mai tîrziu, cîțiva cobai din acest lot se injectează, pe cale subcutană, cu 0,25 ml tuberculină etalon. Cobaii mor în 24 de ore dacă leziunile sînt suficient de avansate; în cazul unui rezultat pozitiv, restul cobailor se injectează, în aceleași condiții, cu cantități mai mici și mai mari ca 0,25 ml din tuberculina de cercetat; produsul poate fi folosit la diagnostic dacă cel puțin cobaii, injectați cu 0,25 ml de tuberculină și mai mult, mor în cele 24 de ore care urmează operației. Această metodă de titrare se utilizează puţin, mai ales după ce diverşi cercetători şi în primul rînd Dorset (1934) au arătat că substanţa cu efect letal este deosebită de aceea care produce reacţia alergică şi cutanată şi că în mediile de cultură nu există o relaţie între cele două substanţe.

Intradermoreacţia, ca metodă de titrare a tuberculinei, a fost folosită şi descrisă de Römer (1909) şi se pare că ea dă rezultate mai precise ca metoda germană. Se execută după cum urmează. Cobaii tuberculoşi se injectează intradermic în mai multe puncte, 12—16 puncte, cu diluţii diferite de tuberculină, 1/10, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800 etc. Pe o latură a corpului se injectează tuberculina etalon, de cealaltă tuberculină de titrat. Reacţiile se citesc după 48 de ore şi tuberculina se diluează şi dozează în raport cu activitatea ei comparată cu a tuberculinei etalon.

Metoda hemaglutinării (Ha) şi *metoda inhibării hemaglutinării (I. Ha.)*, au fost de asemenea recomandate pentru titrarea tuberculinei (vezi metoda la p. 508). Astfel Almássy şi colaboratorii (1953) obţin rezultate satisfăcătoare prin metoda I. Ha.

Durata valabilităţii. Tuberculina îşi reduce prin conservare valoarea sa revelatoare şi de aceea se recomandă ca să nu fie folosită, în practică, o tuberculină brută mai veche de 5 ani (Juskoveţ, 1952). Baidsen a urmărit şi precizat reducerea în timp a valorii revelatorii a tuberculinei brute, constatînd că după 1 an de la preparare ea nu mai are decît 85% din valoarea iniţială, după 2 ani 72%, după 3 ani 60% şi după 10 ani 10%. Tuberculina se conservă sub forma de tuberculină brută, la rece şi la întuneric.

Virulenţa

Bacilii tuberculozei se multiplică în ţesuturi; ei sînt deci virulenţi şi îi găsim, aproape regulat, în noduli sau în celelate leziuni tuberculoase; nu se găsesc decît excepţional în sînge. Ei sînt vehiculaţi de sînge, dar nu se multiplică în acest ţesut. Bacilii din ţesuturile infectate sînt patogeni pentru animalele de experienţă. Ei îşi pot conserva lung timp patogenitatea, cînd sînt întreţinuţi pe medii de cultură. Nègre (1947) constată, la aceeaşi tulpină, diferenţe de patogenitate în raport cu vîrsta culturii. Germenii unei culturi de 3—4 zile sînt apatogeni sau puţin patogeni, în timp ce aceeaşi germeni proveniţi dintr-o cultură veche sînt patogeni. Autorul face însămînţările şi recoltările de germeni, în astfel de condiţii, încît el are siguranţa că germenii pe care îi inoculează provin dintr-o diviziune recentă şi nu din materialul însămînţat.

Virulenţa este degradabilă; la unele tulpini ea se degradează foarte uşor prin treceri pe mediile de cultură, la altele, dimpotrivă, foarte încet. Calmette şi Guérin nu au obţinut o atenuare a unei tulpini bovine decît după cultivarea ei, timp de 11 ani, pe cartof cu bilă de bou. Acţiunea atenuantă a bilei a fost urmărită de diverşi autori, care au observat că această acţiune nu este aceeaşi pentru toate tulpinile, în sensul că unele tulpini se atenuează mai repede, altele mai încet. In general, cu cît tulpina este mai puţin virulentă în momentul însămînţării pe cartof biliat, cu atît ea se atenuează mai repede (Boquet și Grolier). Stamatin (1942), lucrînd cu o tulpină bovină și transplantînd separat și paralel, pe de o parte, germenii coloniei primare, iar pe de altă parte, pe cei ai coloniilor-fiice, obține din aceste din urmă colonii o variantă practic apatogenă, în timp ce varianta primară și-a păstrat lung timp virulența inițială. Varianta apatogenă se comporta, în inoculările experimentale, ca tulpina B.C.G.; ea provoca un abces vindecabil la cobai (doza 5 mg), dar niciodată o tuberculoză evolutivă și omora, în doza de 2 mg iepurele la care producea însă numai leziuni pulmonare. Vaccina la fel ca și tulpina B.C.G., cobaiul și iepurele. Tulpini atenuate au fost izolate și din unele infecții ale pielii la om (lupus). Boquet (1942) consideră atenuarea în sens miciurinist și anume ca o modificare a aparatului diastazic; el afirmă că germenii, cultivați în anumite condiții, pierd o parte din fermenți și anume pe acei care înlesnesc vegetarea lor în țesuturi. Asemenea bacili nu mai pot fi patogeni, ei nemaiputîndu-se cultiva în țesuturile vii.

Infecția experimentală (cu privire, în special, la diferențierea tipurilor de bacili). Patogenitatea unei tulpini se determină, de regulă, prin inoculări la animale. Se poate recurge, în scopul de a deosebi un bacil virulent de altul nevirulent și la teste citochimice (proba cu roșu neutru Dubos—Middlebrook, 1948), care sînt încă în faza experimentală (Hauduroy și Loretan, 1953 și dau încă un procent de erori (Szabó Szücs, 1956).

Teste biochimice de determinare a virulenței. Proba cu roșu neutru se execută astfel (după Szabó): se suspendă germenii dintr-o cultură pe medii cu ou, veche de 12—14 zile, în 3 ml apă fiziologică; se centrifughează 10 minute la o viteză de 1 500 t/m; sedimentul se ia cu 2—3 ml dintr-o soluție 50% de alcool metilic, se agită și se lasă în contact 20 minute; depozitul se centrifughează și se spală prin trei centrifugări repetate; sedimentul se reia apoi în 3 ml de soluție tamponată (5 g de clorură de sodiu, 1 g de natrium barbituricum, 100 ml de apă, pH=8,4) și peste această suspensie se adaugă cîteva picături dintr-o soluție apoasă 1% de roșu neutru (filtrată în prealabil); reacția se citește prima oară după o centrifugare de 20 de minute și a doua oară după o conservare de 24 de ore din momentul în care s-a adăugat indicatorul; reacția se interpretează în raport cu intensitatea culorii sedimentului bacilar notîndu-se cu + pînă la +++. Sedimentul este roșu la bacilii virulenți și necolorat la cei apatogeni.

Teste biologice de determinare a virulenței (inoculări la animale). Bacilul uman poate fi diferențiat de cel bovin, cu o mare precizie, prin inoculări la *bovine*. Kossel și colaboratorii (1905), recomandă în acest scop ca bacilii în doză de 50 mg să fie suspendați în 5 ml de apă fiziologică și să fie inoculați, pe cale subcutană, în regiunea dinaintea spetei. În aceste condiții bacilii umani produc un abces local vindecabil și neurmat de generalizare, în timp ce bacilii bovini virulenți provoacă constant o tuberculoză generalizată.

Capra în lactație, după Calmette și Guérin (1909) permite de asemenea diferențierea celor două tipuri de bacili. Bacilii bovini, în doză de

1—2 mg, inoculaţi, prin canalul galactofor, în glanda mamară, produc o tuberculoză generalizată, în timp ce bacilii umani, în condiţii egale, provoacă o infecţie locală, care se vindecă în cîteva luni.

Metodele de diferenţiere prin inoculări la bou sau capră nu pot fi însă folosite în practica curentă de laborator, deoarece ele sînt prea costisitoare şi se recurge, în acest scop, de cele mai multe ori, la animale mici — iepuri, cobai, păsări etc.

Iepurele este extrem de sensibil faţă de tipul bovin. Calea intravenoasă este cea mai severă ; doze mici de bacili provoacă, pe această cale, o tuberculoză evolutivă ; a 10 000-a parte din 1 mg de bacili virulenţi omoară iepurele în 2-3 luni. 1 mg de bacili umezi conţine, după unii autori, aproximativ 40 000 000 de bacili, după alţii 10—100 milioane, 1 miliard sau 5 miliarde de bacili.

Cu doze mai mari, animalele sînt omorîte şi mai repede. Park, citat de Calmette, constată că din 66 de iepuri injectaţi, pe cale intravenoasă, cu 0,01 mg, 51 au murit între 38 şi 50 de zile şi numai 9 au trebuit să fie sacrificaţi în a 60-a zi.

Tipul uman are pentru iepure, o patogenitate mai redusă în comparaţie cu tipul bovin, el neputîndu-i provoca o tuberculoză evolutivă. Tot Park constată că din 427 de iepuri inoculaţi intravenos cu 1 mg de bacili umezi. 235 au trebuit să fie sacrificaţi în a 60-a zi şi la 175 de animale din această grupă s-a observat, în urma injecţiei, o creştere în greutate, ceea ce dovedeşte că leziunile produse, chiar de 1 mg de bacili, erau minime.

Practic, pentru a diferenţia tipul uman de cel bovin se procedează astfel : din fiecare tulpină se inoculează intravenos doi iepuri cu 1 mg şi doi iepuri cu 0,01 mg ; animalele care nu mor pînă în a 60-a zi sînt sacrificate. In general, iepurii inoculaţi cu tulpini bovine mor înainte de 60 de zile, cu leziuni de tuberculoză în pulmon, splină şi rinichi. Cei inoculaţi cu tulpini umane nu mor pînă în a 60-a zi decît foarte rar şi animalele moarte sau sacrificate nu prezintă leziuni sau prezintă rari noduli diseminaţi în pulmon şi rinichi.

Boquet şi Laporte observă că bacilii umani pot fi deosebiţi, de cei bovini, prin inoculări intrapleurale la iepuri. Bacilii bovini administraţi pe această cale în doză de 0,01 mg produc o tuberculoză generalizată cu noduli în pulmon, ficat şi rinichi, în timp ce bacilii umani, în aceleaşi condiţii şi în aceeaşi doză, provoacă leziuni pulmonare şi pleurale unilaterale. Cele două tipuri de bacili, după cercetările lui Boquet şi Broca, pot fi deosebiţi de asemenea prin inoculări pe cale suboccipitală la iepure. Bacilii bovini produc, în aceste condiţii, o meningită mortală, în timp ce bacilii umani sînt suportaţi fără inconveniente de iepure.

Bacilii bovini inoculaţi în camera anterioară a ochiului produc o leziune care poate fi urmărită prin transparenţa corneii.

Iepurele poate fi infectat cu bacili bovini şi pe cale digestivă, bacilii fiind introduşi direct în stomac cu o sondă esofagiană. Inhalarea unui număr de bacili bovini virulenţi, provoacă regulat apariţia leziunilor pulmonare ; doze mai mici pot traversa pulmonul fără a lăsa vreo urmă, constituind complexul primar în alt organ. Depunerea pe conjunctivă a unei picături dintr-o suspensie de bacili virulenţi bovini tuberculizează regulat iepurele; leziunea primară se instalează în ganglionii gîtului, nelăsînd nici o urmă pe mucoasa pe care au traversat-o.

Tulpinile *aviare* sînt patogene pentru iepure şi dozele mari, 1,5—10 mg de bacili virulenţi, inoculaţi pe cale intravenoasă, produc o tuberculoză septicemică, de tip Yersin; moartea animalului survine în 2—3 săptămîni; la autopsie se constată congestia tuturor organelor; bacilii sînt prezenţi în frotiturile din organe. Bacilii puţin virulenţi, ca şi bacilii virulenţi în doze mici, 0,01—0,0001 mg, produc o infecţie care evoluează încet; moartea survine în 4—12 săptămîni, iar la autopsie se constată leziuni nodulare în splină, ficat şi pulmon. În doze şi mai mici boala evoluează în 4—7 luni. iar leziunile sînt localizate pe seroasele articulare — poliosteoratrite şi în ţesutul osos, mai ales în partea spongioasă a oaselor scurte. Organele interne pot fi indemne de orice leziune sau prezintă modificări de mică importanţă.

Cobaiul este considerat egal de sensibil faţă de cele două tipuri de bacili tuberculoşi izolaţi de la mamifere, deşi se constată unele diferenţe în modul de reacţie a organismului faţă de tipul uman sau tipul bovin. Astfel, în infecţiile cu tip bovin se constată o însemnată granulocitopenie, în timp ce în cazul infecţiilor cu tip uman se observă, dimpotrivă, o creştere progresivă a numărului polinuclearelor din sînge. Aceste diferenţe în modul de reacţie a cobaiului, ar permite, după unii autori, deosebirea celor două tipuri.

Infecţia la cobai se realizează pe cele mai variate căi, per os şi parenteral. Calea pulmonară (instilaţii nazale) dă rezultate pozitive la animalele anesteziate, dar nu la cele treze.

Tipul aviar este practic avirulent pentru cobai; bacilii inoculaţi pe cale subcutantă produc local un nodul vindecabil. 1 mg de bacili aviari inoculaţi pe cale intravenoasă caşectizează animalul şi îl omoară în 18—27 de zile; la autopsie se constată hipertrofia splinei şi ficatului, iar bacilii sînt prezenţi în aceste organe.

Pentru a pune în evidenţă prezenţa bacililor de tip uman sau bovin, într-un produs patologic suspect, se recurge la cobai, care este reactivul cel mai sensibil; cîţiva bacili îl pot tuberculiza şi el poate astfel, da un răspuns pozitiv acolo unde cele mai favorabile medii de cultură nu au permis cultivarea bacilului. Cercetările lui Bretey au arătat că din nouă cobai inoculaţi cu cîte un singur bacil uman virulent, izolat cu micromanipulatorul, cinci s-au tuberculizat; unii din cobai, astfel injectaţi şi care nu s-au tuberculizat, se comportau faţă de reinfecţie ca animalele vaccinate. Cobaii tineri de 70—75 g sînt mult mai sensibili decît cobaii adulţi.

Inoculările, în scop de diagnostic, se fac pe cale subcutană sau intracutană, în regiunea coapsei. Dacă numărul bacililor inoculaţi este mare, se constituie local, în cîteva zile, un abces rece cînd cultura este pură şi unul cald cînd ea mai conţine şi alţi germeni patogeni. Dacă numărul bacililor este mic, reacţia locală se produce mai tîrziu şi ea este constituită dintr-un nodul mic, care poate să se resoarbă fără să abcedeze. Nodulul inflamator, dacă abcedează, constituie un ulcer tuberculos, care persistă pînă la moartea animalului. Paralel cu reacţia locală se dezvoltă şi o inflamaţie a ganglionilor aferenţi; tumefacţia lor creşte pe măsură ce infecţia evoluează. De la primul pachet ganglionar, aferent locului de injecţie, infecţia se transmite la pachetul vecin şi aşa, pe cale limfatică, infecţia cuprinde tot organismul. Moartea animalului survine totdeauna şi cu atît mai repede, cu cît doza inoculată a fost mai mare şi bacilii mai virulenţi. Calmette stabileşte că cobaii infectaţi cu 40 milioane (1 mg de bacili foarte virulenţi) mor în 35—55 de zile, cei cu 400 000 în 45—100 de zile, iar cei cu 80 000 în 60—100 de zile.

Cobaii tuberculoşi reacţionează la tuberculină. Reacţia prezintă un însemnat grad de specificitate. Totuşi, se observă şi reacţii nespecifice. Astfel, cobaii injectaţi, în repetate rînduri, cu bacili rujetici, dau reacţii pozitive la tuberculină. Filtratele de bacili rujetici nu sensibilizează însă cobaiul (Ivanov, 1952). Reacţia la tuberculină stă sub dependenţa sistemului nervos. Achimovici (1953) a demonstrat că reacţia la tuberculină este, în general, negativă la cobaii anesteziaţi. Anestezicul (în cazul citat, uretanul) a realizat o inhibiţie de protecţie a sistemului nervos central, ceea ce a prevenit reacţia inflamatorie alergică la punctul de introducere a tuberculinei în piele. Starea de somn nu poate însă evita şocul tuberculinic mortal, cînd tuberculina este administrată în doză de 0,5 ml pe cale intramusculară, la cobai tuberculoşi.

La animalele moarte din cauza tuberculozei şi nu prin infecţii intercurente se constată leziuni de tuberculoză generalizată. Ganglionii aferenţi locului de injecţie sînt mult măriţi în volum şi prezintă unul sau mai multe focare cazeonecrotice învelite într-un ţesut tare şi fibros; ganglionii vecini sînt şi ei mai mult sau mai puţin hipertrofiaţi. Splina este în general foarte mare: de 10—20 şi chiar de 100 de ori mai mare ca splina normală, care cîntăreşte, în medie 0,5 g. Ţesutul splenic este granulat; pe suprafaţă se pot observa focare hemoragice sau necrotice. Ficatul, deşi mărit în volum, îşi păstrează conformaţia normală; pe suprafaţa sa se pot observa plăci necrotice de culoare galbenă-gri. Leziunile pulmonare apar tîrziu la cobai şi ele constau din noduli miliari de culoare gri. Leziunile în alte organe sînt rar întîlnite. Oulès constată, de exemplu, că din 87 de cobai tuberculoşi numai 2 aveau leziuni în pancreas.

Leziunile tuberculoase ale cobaiului diferă de ale iepurelui; la acesta din urmă leziunile pulmonare apar întîi şi sînt mai întinse şi mai grave ca în alte organe, invers deci de ceea ce se constată în tuberculoza cobaiului. La iepure, leziunile pleurale şi renale sînt frecvente în timp ce la cobai sînt foarte rare. Aceste diferenţe sînt datorite modului de propagare a infecţiei în organismul celor două specii. La cobai, infecţia se transmite pe cale limfatică, iar la iepure, pe cale sanguină, de aceea la iepure inoculările subcutane, dacă nu sînt suficient de masive, pot rămîne fără rezultat; dozele mari duc însă la instalarea unei tuberculoze generalizate cu leziuni masive în pulmon; ganglionii limfatici aferenţi porţii de intrare nu sînt tumefiaţi chiar în acest caz şi nu au leziuni.

Şoarecele. Se infectează constant, pe cale intravenoasă, intraperitoneală şi intracerebrală, cu toate cele trei tipuri. Bacilii bovini, pe cale intravenoasă, sînt mai patogeni ca cei umani; primii produc o tuberculoză evolutivă în doză de 0,001 mg, în timp ce cei din urmă sînt inofensivi în această doză. Dozele mari, 0,1—0,01 mg de bacili umani sau bovini, tuberculizează, în aceleași condiții, șoarecii și la autopsie se constată leziuni cazeoase sau nodulare în pulmon, sau pneumonii fără leziuni nodulare ; ficatul și splina tumefiate, congestionate, însă, în general, fără noduli vizibili cu ochii liberi. În organe și mai ales în leziunile pulmonare bacilii sînt foarte numeroși. Tipul aviar, pe cale intravenoasă, tuberculizează șoarecele în doze variind de la 1 mg la 0,001 mg. Moartea survine, chiar în cazul inoculării dozei de 1 mg, numai după cîteva luni ; animalele moarte după cîteva săptămîni prezintă leziuni congestive în ficat și splină, precum și mase enorme de bacili ; la animalele moarte după cîteva luni de la infecție se constată, frecvent, leziuni pulmonare care constau din numeroși noduli gri, necazeificați; nodulii pot conflua, pulmonul avînd atunci aspectul unei mase sarcomatoase de culoare gri. Numărul bacililor, în aceste leziuni, este mare. Prin evoluția și natura leziunilor la șoarece, tipul aviar se deosebește de bacilul mamiferelor (N. și L. Stamatin, 1939).

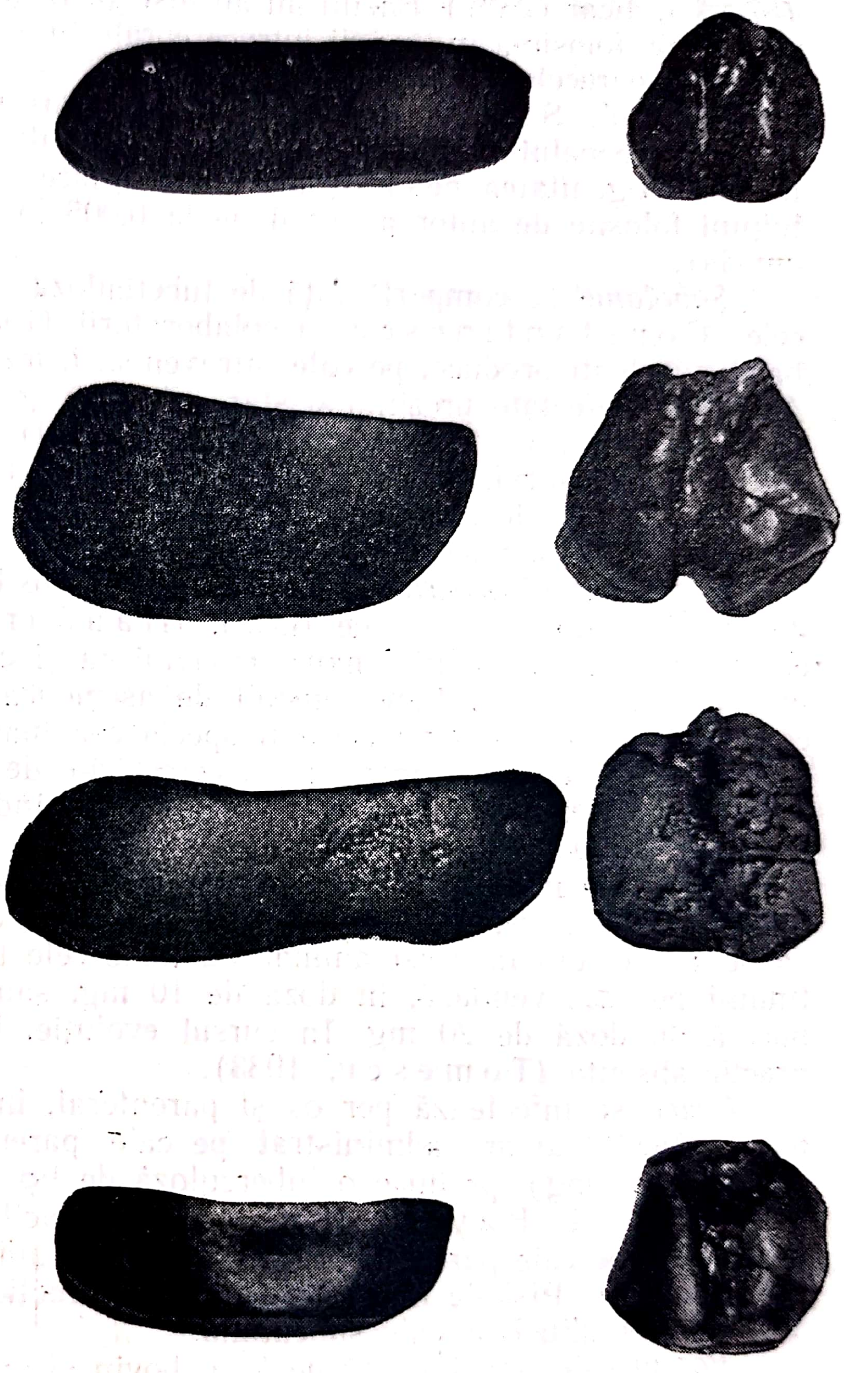


Fig. 77 — **Tuberculoză experimentală la şoarece**

Pulmoni şi spline de la diferiţi şoareci sacrificaţi la 85 de zile de la inoculare

Emelianova (1952) arată că inoculările intracerebrale sînt foarte severe și că doza de 10^{-5} — 10^{-6} mg produc o infecție mortală. Șoarecii inoculați intracerebral cu 10^{-3} mg și sacrificați respectiv după 3, 5, 8, 10, 11, 13 și 14 zile, conțin bacili în creier (98% examene pozitive), splină

(87,4%), ficat (28%). Bacilii nu au fost găsiți în rinichi. Aceste rezultate au permis folosirea inoculării intracerebrale în scopul diagnosticului tuberculozei. Șoarecele, după aceste cercetări, dă un răspuns mai rapid chiar decît cobaiul. Szabó (1956) afirmă că șoarecele se pretează chiar mai bine decît cobaiul la determinarea virulenței tulpinilor de bacili ai tuberculozei. Patogenitatea pentru șoarece (inoculare intravenoasă) a diverselor tulpini folosite de autor a variat de la 0,005 la 1 mg de bacili (greutate umedă).

Șobolanul se comportă față de tuberculoza experimentală ca și șoarecele. Constantinescu și colaboratorii (1952) constată că 1 mg de bacili virulenți produce, pe cale intravenoasă, leziuni constante la șobolan. Animalele infectate prezintă o stare alergică și mor în 16—24 de ore în urma administrării tuberculinei brute (0,5 ml) pe cale intraperitoneală. Bacilii tuberculozei, în amestec cu hidroxid de aluminiu, produc, pe cale intraperitoneală, leziuni mult mai întinse decît bacilii suspendați în apă fiziologică (Stamatin și Berbinschi, 1950).

Hamsterul (Mezocricetus auratus) este sensibil la toate cele trei tipuri de bacili, precum și față de B.C.G. (Hauduroy și col., 1955). Ei se comportă față de bacilii umani și bovini ca și cobaiul, mai ales în cazul inoculării subcutane. Este sensibil de asemenea față de tipul murin. În concluzie, acest rozător pare a fi specia cea mai sensibilă față de bacilii tuberculozei. El a fost introdus în cercetările de laborator, după 1930, de Aharoni, din Jerusalim, și de aici s-a răspîndit în toate marile laboratoare ale lumii.

Cîinele se infectează greu cu ambele tipuri de bacili de la mamifere și este foarte rezistent față de tipul aviar. Tomescu (1933) reușește totuși să obțină leziuni la acest animal, cu toate cele trei tipuri de bacili, injectîndu-i pe cale venoasă, în doză de 10 mg, sau administrîndu-i, pe cale bucală, în doză de 20 mg. In cursul evoluției bolii, bacilemia pare a fi practic absentă (Tomescu, 1933).

Pisica se infectează per os și parenteral, în mod constant, cu tipul bovin. Bacilul aviar, administrat pe cale parenterală și în doze mari (150 — 300 mg), produce o tuberculoză de tip septicemic, mortală în cîteva săptămîni. Bayer (1929) arată că bacilul aviar nu este patogen per os, iar pe cale parenterală nu produce leziuni miliare de tipul foliculului tuberculos. Pisicile infectate parenteral reacționează termic la administrarea tuberculinei pe cale subcutană.

Porcul este sensibil față de tipul bovin și aviar; relativ rezistent față de tipul uman. Koch și Schütz (1901) au arătat, în condiții experimentale, că purceii în vîrstă de 3 luni, alimentați cu material tuberculos provenind de la bovine, fac o tuberculoză evolutivă și adeseori mortală. Animalele scad în greutate și la autopsie se găsesc leziuni întinse de tuberculoză. Purcei de aceeași vîrstă, alimentați cu spută, provenind de la oameni tuberculoși, s-au dezvoltat, din contra, normal și sacrificați după $3^1/_2$ luni ei prezentau leziuni discrete în ganglionii cervicali și, unii din ei, rari noduli în pulmon.

Boul se infectează constant și pe diverse căi cu bacilul bovin; doza de 1—5 mg, inoculată pe cale intravenoasă, produce o granulie intensă și moartea în cîteva săptămîni; pe cale subcutană, doza activă este de 25—50 mg. La locul de inoculare a unei asemenea doze se produce o formaţie nodulară însoţită de tumefacţia ganglionilor limfatici aferenţi. Infecţia, în cazul cînd bacilul folosit este virulent şi animalul receptiv, se generalizează. Ingestia unei doze de 10—100 mg de bacili bovini virulenţi produce de asemenea constant o tuberculoză generalizată.

Inocularea bacililor bovini prin canalul galactofor, în glanda mamară reproduce, la fel, boala.

Boul este, în mod practic, refractar atît faţă de tipul uman, cît şi de cel aviar.

Bacilii umani, chiar în doze masive, produc rar o tuberculoză evolutivă la bovidee. Primele experienţe, privind comportarea bacilului uman la bovine, au fost făcute de Koch şi Schütz, şi comunicate la Congresul de tuberculoză de la Londra din 1901 şi publicate în *Dtsch. med. Wschr.*, 1901, p. 549. Din aceste cercetări rezultă că bovinele sînt nereceptive faţă de tipul uman. Astfel, viţeii care au fost alimentaţi timp de 7—8 luni cu material virulent de origine umană sau cărora li s-a inoculat pe cale subcutană, intraperitoneală sau intravenoasă, material virulent, nu au prezentat nici o modificare clinică şi la autopsia făcută după sacrificare nu s-au găsit nici un fel de leziuni. Aceeaşi autori demonstrează însă paralel, în condiţii experimentale patogenitatea ridicată a bacilului bovin pentru bovine. Bacilul uman, prin treceri repetate pe bovine, a putut fi adaptat într-o oarecare măsură organismului acestor animale. Bacilii aviari sînt însă inofensivi; inoculările intravenoase pot totuşi duce la o localizare a bacililor în glanda mamară, de unde ei se elimină prin lapte un timp îndelungat.

Timoney (1939) a izolat din glanda mamară a unei vaci cu mamită un bacil de tip aviar. Tulpina izolată, inoculată pe cale intramamară, nu a produs o infecţie clinic aparentă.

Oaia este sensibilă faţă de tipul bovin şi puţin sensibilă faţă de tipul uman (Robinson, 1955).

Capra este în mod egal de sensibilă faţă de toate cele trei tipuri de bacili (Beller, 1941). Bacilii bovini, după Calmette şi Guérin (1909), par a fi totuşi mai activi ca cei umani sau aviari.

Păsările sînt rezistente faţă de bacilii mamiferelor, totuşi dozele mari de bacili virulenţi, administrate pe cale intravenoasă, pot produce leziuni. Bang (1908), Stanley observă că bacilii mamiferelor provoacă, la găini modificări în special în pulmon, ceeace nu se observă decît într-o mică măsură în cazul inoculării bacililor aviari. În acelaşi sens, Buşniţă (1936) constată, de exemplu, că bacilii umani, în doză de 2 mg, produc la găină, pe cale intravenoasă, leziuni microscopice nodulare în pulmon, iar bacilii bovini, în aceleaşi condiţii, produc noduli microscopici în pulmoni şi leziuni congestive în alte organe. Bacilii umani şi bovini nu produc leziuni la găină cînd sînt administraţi pe alte căi. În ceea ce priveşte porumbelul, Firu (1933) arată că el este foarte sensibil faţă de tipul aviar, dar şi bacilii mamiferelor, în special cei de tip bovin, pot produce în doze mari leziuni specifice. Infecţia experimentală cu tipul aviar la păsări evoluează ca şi la iepure; dozele mari, 0,1 mg sau mai mult, produc o tuberculoză septicemică de tip Yersin, dozele mijlocii o tuberculoază subacută, cu leziuni nodulare în organe, iar dozele mici o tuberculoză cronică cu leziuni dominante articulare şi osoase.

Relaţiile dintre cele trei tipuri. Problema relaţiilor dintre cele trei tipuri de bacili ai tuberculozei şi în special posibilitatea sau imposibilitatea transformării, în condiţii naturale, a unui tip în altul, prezintă o deosebită importanţă pentru epidemiologie şi epizootologie, ceea ce este de altfel lesne de înţeles. Într-adevăr, metodele de combatere a tuberculozei la animale vor fi unele în cazul cînd această transformare este posibilă şi altele cînd ea este imposibilă. Această problemă, dată fiind importanţa ei, a fost cercetată de numeroşi autori. Cum urmărirea procesului în condiţii naturale este imposibilă, s-a recurs la cercetări experimentale, care au luat în considerare mai ales posibilităţile de transformare a bacilului aviar într-un bacil patogen pentru mamifere, şi invers, a unui bacil uman sau bovin în unul patogen pentru păsări. Nocard (1898) abordează primul această problemă şi afirmă că a obţinut rezultate pozitive, în sensul că bacilii umani cultivaţi în saci de colodiu, un timp îndelungat, în cavitatea peritoneală la păsări, au căpătat proprietăţile bacililor aviari. Comisia engleză (Stanley) reluînd mai tîrziu cercetările, în condiţii similare, ajunge la rezultate negative. O serie de alţi cercetători (Bang, 1908; Zwick, 1910; Zwick şi Zeller, 1914 etc.), inoculînd fie bacili aviari la mamifere, fie bacili ai mamiferelor la păsări, obţin rezultate contradictorii asupra posibilităţii transformării unui tip de bacil în altul. Plum (1935) reia problema în condiţii experimentale riguroase şi, după ce demonstrează că un amestec de bacili bovini şi aviari se purifică de bacilii aviari prin două treceri pe cobai, şi de bacili bovini prin două treceri pe pasăre, încearcă să modifice bacilii bovini în aviari prin treceri pe păsări şi bacilii aviari în bacili bovini prin treceri pe mamifere: cobai, iepuri, bovine. În cele mai multe cazuri rezultatele au fost negative. Autorul semnalează totuşi că uneori se poate obţine modificarea caracterelor de virulenţă a unei tulpini printr-o asemenea operaţie.

S-ar putea conchide, din aceste date, că transformarea unui tip de bacil în altul nu este imposibilă în condiţii experimentale. În condiţii naturale, după datele epizootologice şi epidemiologice de care dispunem asemenea transformări se pare că nu au loc. Bacilii bovini sau aviari care infectează omul conservă caracterele lor de tip, deşi, în unele cazuri, se cultivă un timp destul de îndelungat în organismul uman, ceea ce arată că transformarea unui tip în altul nu se face cu uşurinţă. Această constatare nu exclude însă ipoteza după care cele trei tipuri de bacili ai tuberculozei provin dintr-un tip unic. În acest sens pledează toate proprietăţile morfologice şi fiziologice pe care cele trei tipuri le au în comun. Diferenţierea în tipuri este foarte probabil o consecinţă a cultivării şi adaptării bacilului (iniţial poate saprofit şi probabil nediferenţiat) în organismul unor specii animale mult deosebite. Diferenţierea s-a făcut însă în timp; ea este rezultatul a mii şi mii de treceri şi ar fi, cred, nenatural ca ceea ce s-a realizat în curs de milenii să poată fi schimbat în cîteva luni, prin cîteva treceri pe animale. Faţă de aceste considerente socotim că pentru practica epizootologică problema transformării unui tip în altul este fără importanță, în sensul că un focar de tuberculoză umană (produs de tipul uman) sau un focar de tuberculoză aviară (produs de tipul aviar) nu poate constitui o sursă de infecție pentru bovine, după cum un focar de tuberculoză produs de tipul bovin sau uman nu poate constitui o sursă de infecție pentru păsări.

Modul de formare și caracterele leziunii tuberculoase

Tuberculoza evoluează, în marea majoritate a cazurilor, ca o boală cronică ; evoluția ei, la om și la animale, durează de la cîteva săptămîni — — foarte rar — la cîțiva ani sau mai mult. Infecția este de cele mai multe ori, localizată. Ea poate începe însă la copii și la tineretul animal cu simptome generale grave, fără nici o localizare, dar bacilii care circulă în sînge și care provoacă aceste manifestări de tip septicemic sfîrșesc, în enorma majoritate a cazurilor, prin a se localiza în unul sau mai multe organe, producînd aici leziunea tubenucloasă tipică. Localizarea poate varia ca sediu, toate țesuturile, în afară de nervi, putînd cultiva bacilul, dar leziunea are, în toate aceste localizări, și cu variații neînsemnate la toate speciile, același caracter, așa cum a arătat de altfel Laënnec.

Bacilii pătrund în organism prin pielea lezată sau prin mucoasele intacte ; la poarta de intrare ei întîlnesc leucocitele polinucleare, care îi înglobează, dar nu-i pot digera. Celulele care au înglobat un număr mic de bacili își conservă viabilitatea și mobilitatea. Ele răspîndesc prin torentul limfatic sau sanguin, bacilii în organism. Aceste celule pot fi eliminate, cu bacili cu tot, în afară, prin căile de excreție hepato-intestinale. Eliminarea are loc, în mod constant atunci cînd numărul bacililor nu este prea mare ; în acest caz bacilii trec prin organism fără a lăsa vreo urmă ; prin acest mecanism, organismele sensibile se apără față de micile infecții. Leucocitele polinucleare care au înglobat însă un număr mare de bacili se intoxică, pierd mobilitatea și mor ; aceste celule moarte, care conțin însă bacili vii, sînt înglobate de macrofage. Înglobarea leucocitului mort și parazitat se poate face, fie la poarta de intrare, fie în ganglionul aferent porții de intrare a microbului, fie într-un alt țesut. Leucocitul înglobat este digerat, dar bacilii pe care îi conținea nu suferă un proces identic ci, din contră, ei găsesc în protoplasma mononuclearului condiții favorabile multiplicării. Sub influența acestei multiplicări și a secrețiilor toxice ce însoțesc acest fenomen, celula suferă un proces caracteristic : ea își divide nucleul în timp ce citoplasma, deși se amplifică, nu se mai divide. Se constituie, în acest mod, o celulă gigantă, polinucleată, tipică infecției tuberculoase și care se numește celulă gigantă de tip Langhans, după autorul care, în 1869, a descris-o pentru prima oară. În jurul celulei gigante se formează un strat de celule epiteloide și acestea la rîndul lor, sînt înconjurate de o coroană compusă din unul sau mai multe straturi de limfocite sau celule embrionare. Formația anatomică constituită dintr-o celulă gigantă centrală, avînd în jur două straturi de celule diferite, epiteloide și limfocite, poartă numele de *folicul tuberculos, granulație* sau *tubercul miliar* și macroscopic se prezintă ca, un nodul gri-transparent, sticlos de mărimea unui bob de mei.

Celula gigantă ocupă centrul foliculului tuberculos; dimensiunile ei variază de la 0,2 la 0,4 mm; numărul nucleilor variază, dar el nu pare să depășească cifra de 60. Nucleii sînt așezați în cerc sau potcoavă, au cîte doi nucleoli și uneori sînt deformați, ceea ce constituie un semn de degenerescență. Citoplasma este abundentă, acidofilă, omogenă sau cu granulații fine; se colorează rău și conține, de regulă, mai mulți bacili. Celulele epitelioide sînt dispuse în jurul celulei gigante; ele sînt mari, de formă poliedrică, cu marginile puțin definite asemănîndu-se cu celulele epiteliale, de unde le provine de altfel și numele. Ele pot conține elemente bacilare. Limfocitele au nucleu rotund, bine colorabil, înconjurat de un strat subțire de protoplasmă.

Foliculul turberculos este considerat ca o reacție de apărare a organismului față de bacil. Într-adevăr, în unele cazuri, el se poate fibroza incluzînd în ele bacilii. Se poate însă ca mai mulți foliculi să conflueze, constituind un nodul de o mărime mai importantă; centrul nodulului suferă fenomene de degenerare, și se transformă în acest caz, într-o masă neorganizată, cu aspectul cazeinei, coagulată în grunji de unde numele de cazeificare care se dă procesului. Cazeificarea constituie caracteristica principală a acțiunii patogene a bacilului tuberculozei. În masa cazeificată se întîlnesc resturi de nuclei celulari, precum și bacili vii; aceștia se conservă aici mult timp. Nodulul la unele specii animale se poate calcifica, transformîndu-se, în acest caz, într-o formație tare, rotundă, opacă, albă-cretacee. În nodulii calcificați se pot găsi, chiar după ani de zile, bacili vii și virulenți. Nodulul cazeificat, calcificat sau nu, se prezintă, macroscopic, ca o formație rotundă, dură, de culoare albă-gălbuie.

Foliculul este o leziune esențială, dar nu totdeauna caracteristică infecției tuberculoase; în primul rînd, o asemenea leziune se poate produce și sub influența altor germeni, a unor corpi străini sau, chiar a unor substanțe chimice; în al doilea rînd, nu totdeauna acțiunea patogenă a bacilului duce la constituirea unui folicul, ci ea poate provoca și alt tip de leziune. Infecția tuberculoasă poate, de exemplu, debuta printr-un proces septicemic grav sau prin inflamația unui întreg organ. Pătrunderea unui mare număr de bacili în pulmon, de exemplu, duce la inflamarea întregului organ. În acest caz se constată inițial o inflamație catarală sau descuamativă în alveolele pulmonare, urmată de o secreție fibrinoasă; alveolele sînt pline de această secreție în care plutesc elemente figurate. În această fază, procesul nu are nimic caracteristic și poate fi confundat cu o pneumonie de altă natură; mai tîrziu apare însă caracterul tuberculos al leziunii, cînd infiltrația fibrinoasă se cazeifică, constituindu-se astfel o pneumonie cazeoasă. Foliculii tuberculoși chiar în acest caz sînt prezenți, ei fiind situați în țesutul pulmonar interstițial, la periferia zonei de cazeificare.

Infecția tuberculoasă a seroaselor — pleură, peritoneu, pericard, meninge — se manifestă prin două serii de fenomene; o primă serie o constituie formarea foliculilor în seroase, iar a doua, exudația fibrino-leucocitară, însoțită de o secreție sero-fibrinoasă, care umple cavitatea seroasei. Inițial, în această secreție se găsesc numeroase leucocite polinucleare, care însă dispar repede, în locul lor apărînd limfocitele.

Bacilul tuberculozei poate provoca în unele localizări o proliferare a ţesutului conjunctiv, constituind, în acest mod, sclerozele tuberculoase descrise de diverşi autori şi care au aspectul unor tumori sarcomatoase.

Alături de forma de tuberculoză descrisă mai sus, cunoscută sub numele de *tuberculoza nodulară* sau de tip *Villemin* există şi o formă de *tuberculoză septicemică,* numită de tip *Yersin.* Acelaşi bacil poate produce o formă sau alta, în raport în special cu doza inoculată. Astfel, bacilii bovini, virulenţi, inoculaţi în doze mari (0,1—1 mg), la iepure, produc o tuberculoză de tip Yersin, iar în doze mici (0,001 mg) o tuberculoză nodulară. La fel, bacilii aviari, în doze mari, produc la găină sau iepure o tuberculoză septicemică, cu evoluţie acută, iar în doze mici o tuberculoză nodulară, cu evoluţie cronică.

Tuberculoza de tip Yersin se caracterizează macroscopic printr-o congestie şi o hipertrofie a tuturor organelor interne, în special a splinei şi ficatului, iar microscopic prin prezenţa, în diverse organe (ficat, splină), a unor formaţii nodulare constituite din cîteva celule de tip macrofagic. În aceste forme nu există, de regulă, zone de necroză.

Privită din punct de vedere anatomo-patologic, leziunea tuberculoasă, aşa cum reiese din cele spuse mai sus, poate îmbrăca două tipuri sau forme, şi anume tipul *proliferativ* şi tipul *exudativ.* În tipul proliferativ domină procesele de proliferare celulară — granulia este, de exemplu, o tuberculoză proliferativă — iar în cele exudative procesele de exudaţie — pneumonia tuberculoasă este, de pildă, o formă exudativă de tuberculoză. Cele două forme de tuberculoză sînt uneori mai greu de distins, putînd exista cazuri în care nu se poate preciza care din cele două reacţii domină. Clasificarea corespunde însă unor scopuri didactice. Din punct de vedere patogenetic, tuberculoza exudativă se produce la animale cu o redusă rezistenţă organică, iar cea proliferativă, din contră, la animale cu o însemnată rezistenţă, proliferarea tisulară reprezentînd efortul organismului de a localiza infecţia. Calcificarea leziunilor este de asemenea un semn de evoluţie favorabilă a bolii.

Evoluţia sau modul de propagare a tuberculozei în organismul infectat (Aspecte fizio- şi anatomo-patologice)

Anatomo-patologic, infecţia tuberculoasă evoluează diferit în organismul diverselor specii receptive. Această variabilitate în aspectul leziunilor se datoreşte unor factori multipli, cum sînt structura morfo-fiziologică a organismului, condiţiile epidemiologice, rezistenţa nespecifică şi specifică a organismului, virulenţa bacilului şi doza infectată etc. Nieberle (1954) distinge în această varietate de forme două aspecte principale, pe care le numeşte perioade, şi anume: 1) perioada infecţiei primare şi 2) perioada de reinfecţie.

Perioada infecţiei primare, se caracterizează, din punct de vedere anatomo-patologic, prin leziunile constituite întîi la poarta de intrare, şi apoi, eventual, în întregul organism ca o consecinţă a generalizării procesului primar. Leziunea de la poarta de intrare poartă numele de complex primar: acesta, după Ranke (1928), poate fi complet sau incomplet.

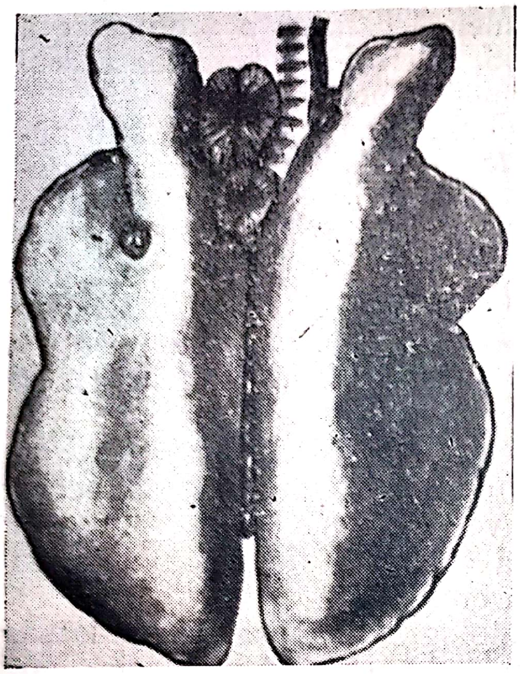


Fig. 78 — Complex primar complet în infecția tuberculoasă la vițel (după Nieberle)

El este complet cînd se găsesc atît leziunea ganglionară, cît și leziunea de la locul prin care bacilul a pătruns în organism (această din urmă leziune este cunoscută și sub numele de *afect primar*). Un complex primar complet, frecvent întîlnit la bovine, este reprezentat, de exemplu, printr-un nodul pulmonar (afectul primar) situat, de regulă, în zonele de mare aerație, cum este fața dorsală a pulmonului, și leziuni în ganglionii traheobronhici. De asemenea, la porc, complexul primar complet poate fi reprezentat printr-un nodul tuberculos în amigdale și leziuni tuberculoase în ganglionii retrofaringieni sau submaxilari. La vițel, ca și la bovinele adulte, complexul primar poate fi situat și la nivelul tubului digestiv și atunci este format dintr-un ulcer tuberculos situat pe mucoasa intestinală și din leziuni ale ganglionilor mezenterici aferenți. Complexul primar este numit incomplet atunci cînd este prezentă numai leziunea ganglionară, fără a găsi vreo urmă la punctul prin care bacilul a pătruns în organism, adică pe mucoase, sau în pulmon. Adeseori, de exemplu, se găsesc la bovine numai leziuni ale ganglionilor traheo-bronhici sau mezenterici, fără o leziune a pulmonului sau intestinului. La fel, la porc, de cele mai multe ori se găsesc leziuni ale ganglionilor retrofaringieni sau submaxilari, fără a găsi însă și noduli la nivelul amigdalelor (punctul obișnuit de pătrundere a bacililor).

Poziția anatomică a complexului primar variază de la o specie la alta. Astfel, la bovinele adulte el este situat, în 90% din cazuri, în pulmon și numai în 10% pe tubul digestiv sau alte organe și țesuturi (mamar, vaginal etc.); la vițel el se găsește în 48% în ficat (infecție congenitală), în 39% în pulmon și în 13% pe aparatul digestiv; la porc și cal, el este situat pe aparatul digestiv și excepțional în pulmon; la ciine, pisică, el se găsește, în proporții egale, în pulmon și aparatul digestiv.

Leziunile complexului primar, complet sau incomplet, pot să rămînă staționare sau se pot generaliza. Infecția evoluează într-un sens sau altul, în funcție în special de reactivitatea organismului respectiv. Ea rămîne localizată atunci cînd la adăpostul unei rezistențe nespecifice însemnate organismul a căpătat, prin contactul cu bacilii din complexul primar, și o rezistență specifică, capabilă să oprească extinderea infecției. Din contra, asistăm la generalizarea infecției, cînd o asemenea rezistență specifică nu s-a putut crea. Generalizarea infecției este fatală la unele specii, cum este, de exemplu, la porc. Ea se produce mai rar și nu este obligatorie la om și bovine. Generalizarea care are ca punct de plecare complexul primar, care este deci o continuare a infecției primare, a fost numită de Hübschmann (1927), *generalizarea timpurie*. Leziunile, în acest mod de generalizare au legătură între ele, precum și cu complexul primar. Generalizarea, plecînd din complexul primar, se poate face fie prin contact, fie pe cale limfatică sau sanguină, fie pe cale caniculară, adică prin canalele bronhice. Ea poate îmbrăca, din punct de vedere anatomo-patologic, după Nieberle, forma de tuberculoză miliară, care este o consecință a unei difuziuni masive a bacililor pe cale sanguină, forma de tuberculoză lentă (cu rari noduli în organe, ca o consecință a pătrunderii unui număr redus de bacili în sînge) și forma de pneumonie cazeoasă, galopantă, acinoasă și lobulară. Aceasta din urmă se întîlnește rar și numai la viței și animale tinere, și se caracterizează, anatomo-patologic, așa cum arată și numele, printr-o pneumonie cazeoasă.

La om și bovine, pe lîngă formele legate de perioada infecției primare, se mai întîlnesc, după Nieberle, și alte forme, care sînt absente la alte specii, și anume așa-numita *tuberculoză cronică* a organelor și *generalizarea tîrzie*; ambele aceste forme corespund perioadei de reinfecție, după clasificarea lui Nieberle. Tuberculoza cronică a organelor este reprezentată prin leziuni tuberculoase limitate la un organ — pulmon cel mai des, mai rar, ugerul și uterul; la bovine, aceste leziuni sînt produse fie de bacili exogeni, fie de bacili endogeni, care provin din focarele latente reactivate. Leziunile, într-un caz ca și în altul, sînt rezultatul unei reinfecții exogene sau endogene. Evoluția localizată la un organ se datorește rezistenței însemnate pe care organismul o opune generalizării infecției. Tuberculoza cronică a organelor, poate evolua însă spre generalizare, și anume, atunci cînd sub influența unor factori depresivi din mediu se produce o scădere a rezistenței organice specifice și nespecifice. O asemenea generalizare, care este rezultatul unei reinfecții și care evoluează într-un organism care a învins și localizat o primă infecție, poartă numele și de generalizare tîrzie.

Tuberculoza cronică a organelor se caracterizează, din punct de vedere patogenetic, prin difuzarea bacililor prin canaliculele bronhiale și prin absența difuziunii lor pe cale limfatică sau sanguină; anatomo-patologic, prin lipsa metastazelor limfatice (absența leziunilor în ganglionii limfatici aferenți) și hematogene, prin dominarea fenomenelor de ramoliție și nu a celor de calcificare, prin prezența focarelor acinoase și acinonodulare, precum și a cavernelor și ulcerelor tuberculoase pe trahee și bronhii.

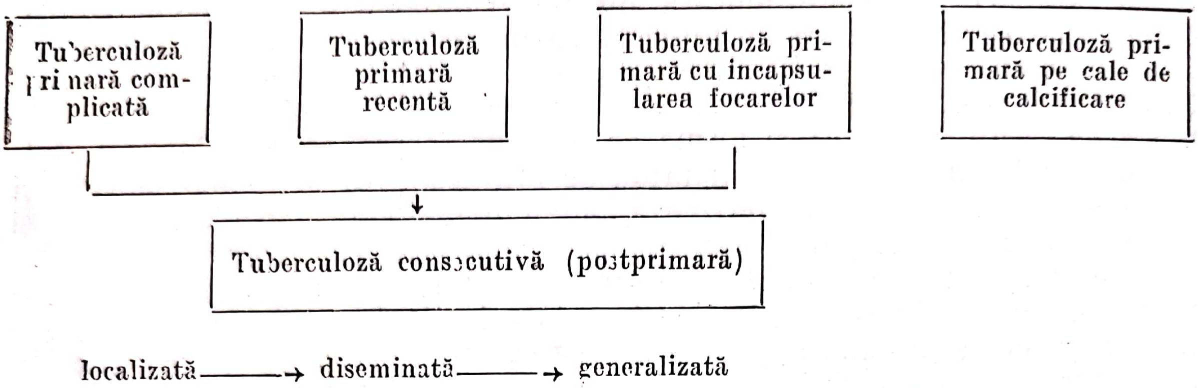
Generalizarea tîrzie poate îmbrăca două forme și anume:

1. tuberculoza miliară acută, tipică;
2. generalizarea acută, legată de o anumită formă extensivă de tuberculoză.

Această schemă a evoluției tuberculozei la animale și om nu pare a cuprinde toate formele de tuberculoză care se întîlnesc în clinică și la autopsie. De aceea, ea nu a fost și nu este unanim acceptată. Atît patologia umană (Canetti, 1946), cît și cea veterinară (Kokuricev, 1949), o găsesc necuprinzătoare. Kokuricev (1954), de exemplu, afirmă că la animale toate formele de tuberculoză sînt legate de complexul primar și că reinfecția lui este posibilă.

Kokuricev, plecînd de la aceste principii, prezintă următoarea schemă de clasificare a leziunilor tuberculoase la animale.

Tuberculoza primară


Tuberculoză primară complicată
Tuberculoză primară recentă
Tuberculoză primară cu incapsularea focarelor
Tuberculoză primară pe cale de calcificare
Tuberculoză consecutivă (postprimară)
localizată → diseminată → generalizată

După autor, aşa cum se vede în schemă, există două forme de tuberculoză şi anume primară şi postprimară sau consecutivă.

Tuberculoza primară se poate prezenta sub mai multe aspecte:

Tuberculoza primară complicată este acea formă în care se observă inflamaţii perifocale, noduli şi chiar focare metastatice, situate de-a lungul vaselor limfatice aferente, vaselor sanguine şi bronhiilor.

Tuberculoza primară recentă, incapsulată şi calcificată sînt diverse forme evolutive ale infecţiei tuberculoase.

Tuberculoza postprimară sau consecutivă este acea formă în care focarul primar nu mai ocupă o poziţie dominantă în tabloul anatomo-patologic ci, această poziţie este deţinută de focarele metastatice şi se poate prezenta sub mai multe aspecte.

Tuberculoza locală este numită acea formă în care leziunile sînt situate într-un singur organ — pulmon, de exemplu (corespunde tuberculozei cronice a organelor din schema lui Nieberle).

Tuberculoza diseminată, în care leziunile cuprind o grupă de organe — pulmon, pleură, pericard, sau pulmon, ficat; difuziunea se face între organele care au continuitate vasculară-limfatică sau sanguină.

Tuberculoza generalizată este acea formă în care leziunile sînt situate în organe îndepărtate, ca o consecinţă a difuziunii infecţiei pe cale sanguină.

Leziunile, în diverse organe, pot îmbrăca diverse aspecte.

Astfel, în pulmon se intîlnesc următoarele forme:

1. tuberculoza miliară acută, predominant exudativă;
2. tuberculoza miliară cronică, predominant proliferativă;
3. tuberculoza nodulară, cu noduli mici sau mari;
4. tuberculoza acinoasă-exudativă sau proliferativă;
5. tuberculoza bronho-pneumonică lobulară productivă, cazeoasă sau cu caverne.
6. tuberculoza bronho-pneumonică lobară, cu cazeificare, caverne sau ciroză.

In ganglionii limfatici se găsesc forme de tuberculoză nodulară, difuzo-productivă şi difuzo-cazeoasă.

Pe mucoase pot fi prezente forme nodulare, ulceroase și pe cale de cicatrizare.

Pe seroase se pot găsi forme difuzo-productive, nodularo-productive (tuberculoza perlată) și exudative (acestea din urmă, în special la ciine).

În ficat, rinichi, splină se găsesc forme miliare, nodulare, cu focare mari destructive-cazeificante, cavernoase și cirotice.

În uger, forme miliare, nodulare, acute, exudative, cazeoase și cirotice.

În uter forme nodulare, difuzo-cazeoase, ulceroase.

Imunitatea în tuberculoză

Instalarea unei infecții tuberculoase este condiționată de prezența germenului virulent și de existența unei gazde receptive. Bacilii avirulenți sau de o virulență redusă sînt incapabili să producă un proces infecțios grav; bacilii virulenți, în număr redus, sînt și ei însă, în majoritatea cazurilor, inofensivi. Infecția este asigurată cînd bacilii infectanți sînt virulenți și pătrund în număr mare și în repetate rînduri într-un organism receptiv. Calmette și Bruyant au demonstrat, pe cobai, importanța pe care o are în producerea infecției introducerea repetată a germenilor. Ei au arătat, astfel, că la cobai inoculați de două ori cu cîte patru bacili nu se dezvoltă un proces tuberculos; cobaii se tuberculizau însă dacă inocularea, cu aceeași doză, se repetă, nu de două ori, ci de zece ori. La om și animale, micile ingestii sau inhalații de bacili sînt ușor neutralizate. Bacilii sînt prinși de leucocite chiar de la poarta de intrare și eliminați o dată cu ele, din organism, prin intestin sau ficat; infecțiile repetate duc, în mod fatal, la constituirea unuia sau mai multi foliculi tuberculoși, deci la instalarea infecției. În concluzie un contact prelungit cu materialul infecțios asigură instalarea infecției.

Copiii și animalele tinere se tuberculizează mai ușor ca adulții; această receptivitate nu se datorește numai unei sensibilități organice particulare, legate de vîrstă, ci și absenței unei rezistențe specifice. Se constată, într-adevăr, că adulții care locuiesc în regiuni indemne de tuberculoză se infectează tot așa de ușor ca și copiii din regiunile infectate. Receptivitatea copiilor se datorește, deci, virginității organismului lor față de orice contact bacilifer; rezistența adulților, aparent sănătoși, din centrele aglomerate și intens infectate, se datorește contactului cu indivizii infectați, contact care, insuficient ca să provoace infecția acută a dus la constituirea unor focare de tuberculoză latentă. In acest sens se constată că în centrele infectate procentul reacțiilor pozitive la tuberculină, deci al indivizilor (oameni sau bovine) infectați, crește o dată cu vîrsta.

Numeroase observații atestă că oamenii cu reacții pozitive la tuberculină sînt mult mai rezistenți față de infecția tuberculoasă ca cei cu reacții negative. Marfan, încă din 1886, a observat că, la copiii care au prezentat adenite supurative ale ganglionilor cervicali nu se dezvoltă, aproape niciodată, leziuni tuberculoase pulmonare. Rist, Rey și Tuchilă (1938) printre alții, au constatat că fetele angajate ca infirmiere în sanatoriile de tuberculoși, și care în momentul intrării în serviciu nu reacționează la tuberculină, dau un procent mult mai mare de infecții tuberculoase decît cele cu reacții pozitive. Observații similare au fost făcute de Brun și colaboratorii (1947). Ei constată că dintr-un total de 330 de eleve, intrate într-o școală de infirmiere din Lyon, reacționau inițial la tuberculină, 214 iar 116 aveau reacții negative. Accidente tuberculoase, din care unele foarte grave, nu au survenit în timpul școlarității, decît printre elevele care în momentul intrării în școală prezentau o reacție negativă. În general, persoanele cu reacții pozitive, trăind într-un mediu infectat (sanatorii de tuberculoși), dau un procent mai redus de infecții în comparație cu cele cu reacții negative. Rezultatele nu mai sînt aceleași dacă persoanele supuse observației trăiesc în condiții de igienă nesatisfăcătoare. În acest caz, tuberculoza este mai frecventă printre cei cu reacții pozitive, decît printre cei fără reacții. Condițiile de viață nesatisfăcătoare fac ca focarele latente să se transforme în tuberculoze clinice. Acest lucru nu este posibil la cei cu reacții negative pentru bunul motiv că aceștia nu sînt purtători de bacili. Această afirmație este ilustrată de observațiile făcute asupra minerilor din Africa de Sud, unde din 100 000 de mineri cu reacții negative au făcut o tuberculoză clinică, 347 în timp ce din 100 000 de mineri cu reacții pozitive s-au îmbolnăvit 738. Totuși, trebuie remarcat că, proporțional, mortalitatea a fost mai mare printre bolnavii care inițial nu reacționau la tuberculină, decît la cei care reacționau. Sensibilitatea inițială, starea alergică pe care o aveau aceștia din urmă le conferea o rezistență față de infecție, ceea ce dovedește încă o dată existența legăturii dintre alergie și imunitate.

Experimental, pe bovidee, Calmette și Guérin au observat că animalele cu reacții negative fac regulat în urma inoculării a 5 mg de bacili, o granulie tuberculoasă, în timp ce la bovinele cu reacții pozitive infecția provocată de aceeași doză, duce la instalarea unei tuberculoze cronice.

Aceste date arată că o infecție o dată instalată împiedică în general, prin prezența ei, o nouă infecție. Koch, încă din 1891, a făcut, pe cobai, experiențe demonstrative în acest sens. El observă că o primă inoculare de bacili virulenți provoacă deabia după 10—15 zile apariția unei reacții locale care constă dintr-un abces rece; acesta se deschide și ulcerul astfel constituit persistă pînă la moartea animalului. Inoculînd un cobai, care are deja un ulcer tuberculos constituit, cu o nouă cantitate de bacili vii și virulenți, Koch constată că evoluția leziunii, la locul reinfecției, este cu totul diferită de a primei infecții. A doua sau a treia zi după reinoculare, locul devine dur, iar pielea, pe o suprafață de 0,5—1 cm^2, se colorează întîi în roșu-violaceu și apoi în negru; în zilele următoare pielea se necrozează și se elimină. Noua ulcerație se vindecă repede și definitiv. Prin acest fenomen inflamator precoce bacilii reintroduși sub piele au fost imobilizați, fixați în țesut și eliminați total prin mortificarea acestuia; într-adevăr, se constată nu numai vindecarea ulcerului local, ci și faptul că ganglionii aferenți locului de reinfecție nu se tuberculizează; bacilii au fost deci imobilizați rapid și nu au avut timp să treacă prin vasele limfatice în primul pachet ganglionar. Fenomene locale asemănătoare au loc și în cazul inoculării bacililor morți sau extraselor bacilare; reacția la tuberculină nu este decît un fenomen Koch, o reacție de tip alergic, care tinde să elimine bacilii sau produsele bacilare nou introduse și, pentru acest motiv, trebuie socotită ca o reacție de apărare și încadrată în fenomenele de imunitate.

Gastinel și Brocard (1945) disting în fenomenul lui Koch două feluri de manifestări: una este de hipersensibilitate, de tip tuberculinic, cu echimoze și necroze cutanate, cealaltă este o manifestare de imunitate, care duce la eliminarea bacililor și la oprirea evoluției reinfecției. Reacția de sensibilitate poate dispărea, cea de imunitate este însă mult mai persistentă. Într-adevăr, așa cum a arătat Burnet, încă din 1908, injecțiile zilnice, timp de 12 zile, de tuberculină (0,025 ml de tuberculină brută în 1 ml de apă fiziologică) desensibilizează cobaii tuberculoși față de acțiunea revelatorie a tuberculinei. Această desensibilizare se observă și în infecțiile tuberculoase grave, fenomenul avînd aceeași origine și anume: vărsarea continuă în organism a unei mari cantități de produse bacilare. Animalele astfel desensibilizate, nu pierd însă rezistența pe care le-a conferit-o prima infecție. Boquet (1941) a arătat, în aceeași ordine de idei, că animalele (cobaii) vaccinate se comportă la fel față de infecția tuberculoasă, indiferent dacă sînt desensibilizate sau nu. Autorul admite, pentru a explica acest fenomen că desensibilizarea modifică sensibilitatea capilarelor, inhibîndu-le mobilitatea și diminuîndu-le permeabilitatea, de unde absența edemului la locul de injecție, dar nu are nici o influență asupra elementelor celulare care își conservă „supraactivitatea fiziologică imprimată prin vaccinare" și care, datorită acestei activități, împiedică difuziunea bacilară. La rezultate similare a ajuns și Nasta (1928).

Holland (1953), cercetînd problema relațiilor dintre sensibilitatea la tuberculină și rezistența la infecția tuberculoasă ajunge la următoarele concluzii:

a) starea de imunitate nu este în mod obligatoriu însoțită de hipersensibilitate;

b) starea de hipersensibilitate singură nu este protectoare:

c) hipersensibilitatea și imunitatea pot fi disociate.

În general și în mod practic, imunitatea este însoțită de o stare de hipersensibilitate la tuberculină și existența acesteia din urmă poate constitui o dovadă că imunitatea este prezentă.

Vaccinarea contra tuberculozei. Tulpina vaccinală B.C.G. Calmette și Guérin, plecînd de la aceste date asupra relațiilor dintre infecție și imunitate, au ajuns la stabilirea unei metode de vaccinare contra tuberculozei. Pentru a vaccina un organism față de bacilul tuberculozei, este necesar să se creeze, în acest organism, un focar latent, care să-l facă capabil să elimine bacilii de reinfecție. Un asemenea focar nu poate fi creat cu ajutorul bacililor virulenți, pentru că aceștia sînt periculoși pentru organism; de aceea trebuie să se recurgă, în acest scop, la bacili atenuați, capabili însă să producă o stare alergică, adică semnul existenței unei imunități Calmette și Guérin au obținut bacili cu asemenea însușiri. Ei au atins acest scop, plecînd de la o tulpină bovină, izolată la Alfort, în 1902, și numită „lait Nocard"; în 1908, tulpina era încă foarte virulentă: doza de 0,0001 mg omora cobaiul în 60 de zile. Această tulpină, în vederea atenuării a fost cultivată pe cartof biliat; prima însămînțare a fost făcută la 7 februarie 1908; transplantările, pe același mediu, s-au făcut întîi din 2 în 2 săptămîni și apoi din 3 în 3 săptămîni. Tulpina s-a atenuat în 11 ani, după 198 de treceri pe acest mediu; după acest interval, în 1919, tulpina nu mai tuberculiza iepurele cu doza de 1 mg, cobaiul cu doza de 5 mg şi boul cu doza de 100 mg. Pasagiile pe cartof cu bilă au continuat şi s-a constatat, prin numeroase încercări făcute pe animale de experienţă, că tulpina îşi menţine acelaşi grad de atenuare. Astfel, dozele mai mari de 5 mg produc, pe cale subcutană, la cobai, un abces rece, vindecabil, iar pe cale intraperitoneală, în aceeaşi doză, noduli epiploici şi peritoneali, cu conţinut purulent; direct, în cord, animalul suportă 1—10 mg. La iepure, în cazul inoculării subcutane, se produce un abces; pe cale intravenoasă, dozele mai mari de 10 mg omoară animalul în 15—20 de zile, cu leziuni de pneumonie mai mult sau mai puţin întinse (Cantacuzino şi col., 1929). Bacilul este patogen pentru hamster (*Mezocricetus auratus*), la care produce o tuberculoză evolutivă şi mortală în doze relativ mici, 0,01—0,1 mg. Moartea survine după cîteva luni sau chiar un an, la autopsie găsindu-se splina mult mărită şi conţinînd o cantitate considerabilă de bacili. Spermofilul (*Citellus fulvus concolor*) este şi el sensibil însă numai la doze mari (Hauduroy şi Rosset, 1955).

Bacilul Calmette-Guérin este de tip eugenic, dînd colonii de tip R pe cartof glicerinat şi mediul Löwenstein. Spre deosebire de bacilii virulenţi el nu se dezvoltă în mediul Besredka. Această tulpină, numită B.C.G. (bacilul Calmette-Guérin), a fost folosită la vaccinarea bovideelor şi apoi a omului, după ce numeroase cercetări experimentale au dovedit însuşirile ei vaccinante. Oamenii, ca şi bovinele, supuşi vaccinării, trebuie să fie indemni de orice leziune tuberculoasă, vaccinarea fiind inutilă la indivizii infectaţi. In practică, pentru a realiza această condiţie, vaccinul se aplică la copii şi la tineret, care, în enorma majoritate a cazurilor, sînt indemni de tuberculoză. La copii, vaccinul se administrează, în mod obişnuit, în trei reprize, la 2 zile interval, îndată după naştere, a doua, a patra şi a şasea zi, sau a treia, a cincea şi a şaptea zi. Doza administrată, de fiecare dată, este de 10 mg în 2 ml de lichid. Vaccinarea se repetă la 1 şi 3 ani. Ingestia de bacili este în enorma majoritate a cazurilor inofensivă; ea trebuie să provoace însă un focar latent, care să sensibilizeze organismul vaccinat faţă de tuberculină.

Ingestia, aşa cum rezultă din numeroase cercetări, producînd un procent redus de sensibilizări, se aplică în ultimul timp vaccinarea pe cale dermică, prin acupunctură sau scarificare, ca la vaccinul animal. Bacilii sînt depuşi pe leziunile cutanate produse printr-un aparat care puncţionează pielea în mai multe locuri.

Ingestia sau inocularea vaccinului B.C.G. nu este, în general, urmată de nici un fel de complicaţii. Vaccinul este, practic, bine tolerat. Unele accidente pot totuşi surveni la indivizi care au o sensibilitate excepţională. O asemenea sensibilitate se întîlneşte mai ales la oamenii din ţările nordice. Astfel, Dsoogleever (1953) cercetînd 3 636 de adolescenţi, la 1 an după vaccinarea cu B.C.G., a constatat că 0,3% din cei vaccinaţi au prezentat o linfadenită supurativă, 0,8% o hipertrofie a ganglionilor aferenţi, însoţită de unele complicaţii, 6,7% hipertrofie a ganglionilor aferenţi neînsoţită de vreo altă tulburare, 0,1% un eritem nodos, 0,4% o indispoziţie generală şi 0,24% o conjunctivită care ar putea fi atribuită vaccinării.

Oeding și Hesselberg (1954) relatează că un om (suedez) vaccinat cu B.C.G. a murit, prezentînd la autopsie leziuni tuberculoase generalizate, din care s-a izolat B.C.G. Un caz similar a fost întîlnit de Meyer în Danemarca. Un băiat de 7 ani a prezentat după vaccinare o inflamație edematoasă a ganglionilor limfatici periferici, urmată apoi și de alte localizări. După moarte s-au izolat, din diverse leziuni, 13 culturi și toate au fost de tip B.C.G.

Imunitatea conferită prin vaccin B.C.G., în mod practic durează atît cît și focarul creat de vaccin; prin eliminarea focarului și deci a bacililor pe care acesta îi conține, imunitatea dispare. Imunitatea conferită organismului de un focar vaccinal nu este absolută, căci ea poate fi învinsă prin infecții repetate și masive. Rezultatele acestei metode de vaccinare sînt încă discutate și valoarea ei, chiar pentru om, pusă la îndoială; pare foarte puțin probabil că ea va permite învingerea acestui flagel al umanității.

La animale și în special la bovidee, vaccinarea cu B.C.G. s-a aplicat pe o scară mai puțin întinsă, deoarece, încă de la început, s-au adus metodei obiecții serioase și care au împiedicat extinderea ei în marea practică. O primă obiecție se referă la faptul că vaccinarea cu B.C.G. sensibilizează animalele și împiedică eradicarea tuberculozei. Într-adevăr, dacă toate animalele sînt vaccinate, toate vor reacționa la tuberculină; or, cum este foarte probabil că printre aceste animale cu reacții pozitive există unele cu focare produse de bacili virulenți, combaterea tuberculozei este astfel îngreuiată. În plus, chiar leziunile produse de bacilul vaccinal nu se deosebesc cu ușurință de cele produse de bacili virulenți și deci chiar la examenul necropsic nu se pot totdeauna diferenția leziunile produse de bacili virulenți de cele provocate de bacilul vaccinal. Diferențe între cele două feluri de leziuni există totuși (Kokuricev, 1936). Valoarea imunizantă a vaccinului B.C.G., pentru bovine, pare a fi însemnată, mai ales pentru animalele tinere. Kalan (1948), observă că B.C.G.-ul este eficace la bovinele tinere pînă la 2 ani și că injecțiile repetate conferă acestora o stare suficientă de imunitate. După vîrsta de 2 ani inoculările, chiar repetate, nu mai conferă animalelor o imunitate satisfăcătoare.

Vaccinarea bovinelor contra tuberculozei a fost încercată, înainte și după descoperirea vaccinului B.C.G., și de alți autori și cu alte produse, neajungîndu-se însă la rezultate valabile pentru marea practică. Behring, Römer și Ruppel (1902) inoculau bovinele, în vederea vaccinării lor, cu bacili umani atenuați; prima inoculare se făcea la vîrsta de 6 luni, cînd se inocula, intravenos, o doză de 4 mg de bacili; a doua inoculare se făcea, 3 luni mai tîrziu, cu o doză de cinci ori mai mare (20 mg). Animalele astfel vaccinate prezentau un însemnat grad de imunitate; metoda nu a intrat în practică din cauza pericolului ce-l prezentau animalele vaccinate pentru om: ele eliminau, într-adevăr, bacili vaccinali și puteau, astfel, constitui focare de infecție pentru om. Această metodă a fost experimentată și la noi în țară (Alexandrescu, 1909). Vallée a folosit, tot pentru vaccinarea bovideelor, o tulpină izolată de la cal și care avea caracterele tipului aviar; bacilii erau înglobați în ulei de vaselină, pentru a se resorbi mai încet și a prelungi astfel durata contactului dintre organism și bacil, mărind, în aceste condiții, intensitatea imunității.

Tipul murin şi vaccinarea cu acest tip. În ultimul timp s-a încercat vaccinarea cu tipul murin al bacilului tuberculozei care pare a fi un bacil virulent, de tip mamifer, probabil bovin, atenuat prin treceri pe rozătoare, şi care, este cunoscut şi sub numele de O.V.S. (Oxford Vole strains), adică tulpina de şoarece de cîmp Oxford. Această tulpină a fost izolată de Wells (1937) de la un şoarece sălbatic găsit mort pe o şosea şi care, la autopsie, prezenta noduli necrotici în ţesutul conjunctiv subcutanat. În noduli erau bacili acidorezistenţi, şi făcîndu-se culturi din aceşti noduli, s-a izolat tulpina amintită. Ulterior, acest germen a fost găsit la peste 900 de rozătoare aparţinind la patru specii, şi anume: *Microtus agrestis, Clethrionomys glareolus, Apodemus sylvaticus* şi *Sorex araneus*. Germenul este deosebit de bacilul leprei murine a lui Stefanski, care, ca şi bacilul leprei, nu se cultivă pe medii, în laborator. Tipul murin se cultivă însă în aceleaşi condiţii ca şi bacilul tuberculozei, bovine. Tulpina izolată de Wells este, în condiţii experimentale, apatogenă sau puţin patogenă pentru iepure, bou şi capră, dar este patogenă pentru şoarece. La cobai, în cazul inoculării intraperitoneale, şi la iepure în urma inoculării pe cale intravenoasă a unor doze mari de cultură se produce o infecţie asemănătoare celei cauzate de bacilul bovin. În cazul inoculării intradermice, la iepuri sau cobai, a unor doze mici, se produce o infecţie benignă, însă animalele reacţionează la tuberculină.

Rezultatele obţinute prin vaccinarea cu tulpina murină (O.V.S.) au fost încurajatoare. Astfel, Birkhaug (1946) afirmă că, printr-o injecţie de 0,005 mg de bacili se conferă cobailor o rezistenţă apreciabilă, însă mai mică ca aceea conferită de B.C.G. Alţi autori obţin, la cobai, prin vaccinare cu tipul murin, aceeaşi rezistenţă ca şi cu B.C.G. Pe cale bucală, aşa cum observă Naletov (1953), tulpina nu imunizează cobaii; mai mult încă, la animalele astfel tratate se observă o sensibilizare faţă de infecţia tuberculoasă.

La bovine, Griffith şi Dalling (1940) obţin, cu tulpina murină, rezultate superioare chiar celor date cu B.C.G. Cultura murină se inoculează subcutan sau intravenos, în doze variind de la 0,1 la 75 mg.

Joung şi Patterson (1947) obţin tot la bovine, rezultate similare cu doza de 5 mg de bacili murini, injectaţi o singură dată, pe cale intravenoasă.

Goldenberg şi colaboratorii (1952), în U.R.S.S., reuşesc să imunizeze viţei cu acest bacil. Infecţia germenilor produc o bacteriemie durabilă şi o stare alergică. Viţeii vaccinaţi nu s-au infectat în contact cu animalele tuberculoase, ceea ce dovedeşte că ei s-au imunizat.

Rezultate satisfăcătoare s-au obţinut şi la om (Wells, 1949).

Leziunile produse de bacil, la animale, au fost studiate printre alţii şi de Naletov (1953).

Vaccinarea cu bacili bovini atenuaţi de alt tip decît B.C.G. Gräub şi colaboratorii (1942), Manninger şi Kemenes (1954 şi 1955) au folosit, experimental, pentru vaccinarea bovideelor, o tulpină atenuată numită P şi care a fost obţinută din cunoscuta tulpină bovină Vallée. Autorii afirmă că rezultatele obţinute au fost bune. Astfel, în experienţele lui Manninger şi Kemenes, din 14 animale vaccinate şi supuse contagiului (cohabitare cu animale tuberculoase) neîntrerupt timp de 20—28 de luni, numai 3 animale s-au infectat, prezentînd complexe primare în ganglionii retrofaringieni sau mezenterici. Restul de animale au rămas sănătoase. În aceleași condiții, din 15 animale nevaccinate, 11 au făcut tuberculoză generalizată iar 4, complexe primare.

*

Reiese din aceste date că organismele receptive pot deveni rezistente față de bacilul tuberculozei. Această rezistență se poate realiza prin infecții naturale, neevolutive și prin vaccinare. Dintre vaccinuri, în momentul de față, vaccinul B.C.G. este singurul care se aplică pe o scară întinsă în combaterea infecției tuberculoase umane. Imunitatea antituberculoasă este legată de existența în organismul receptiv, a unui focar latent, este deci o imunitate de infecție. Focarul latent conferă, în general, organismului, o stare de rezistență și sensibilitate la tuberculină. Cu toate că nu există o relație strînsă și obligatorie între imunitate și sensibilitatea la tuberculină, în testarea unei imunități nu ne putem servi decît de proba alergică și se socotește că un organism care nu are o tuberculoză clinică și care reacționează la tuberculină este mai rezistent față de infecția tuberculoasă decît un organism netuberculos și cu reacție negativă la tuberculină.

INFECȚIA TUBERCULOASĂ NATURALĂ

(*Tuberculosis*)

Infecția produsă de bacilul tuberculozei, la animale și om, se numește tuberculoză. Boala, la toate speciile, se caracterizează clinic printr-o evoluție. în general, cronică, iar anatomo-patologic prin constituirea în diverse organe și țesuturi a unor leziuni specifice.

Tuberculoza la om

Arie geografică și frecvență. Tuberculoza umană este răspîndită pe tot pămîntul, de la poli pînă la ecuator. Procentul de oameni infectați variază de la o regiune la alta și este legat de felul de viață a oamenilor; el este mai ridicat în orașe și marile aglomerații, decît la țară și în regiunile cu populația rară, mai mare în regiunile temperate decît la ecuator. În decursul evoluției istorice, intensitatea infecției tuberculoase a variat, la fel, în raport cu modul de viață a oamenilor. Tuberculoza a fost foarte răspîndită în Evul mediu, cînd oamenii trăiau aglomerați în cetăți, unde duceau o viață cu totul neigienică. În timpurile moderne, începînd cu secolul al XVII-lea și cu introducerea în viața oamenilor a principiilor de igienă, frecvența tuberculozei a început să scadă, fără însă ca boala să dispară. Ea constituie și astăzi un flagel care produce numeroase victime. Astfel, în S.U.A., au murit, în 1948, 43 833 de persoane din cauza tuberculozei, ceea ce revine la 30 de cazuri mortale pentru 100 000 de locuitori. Procentul de morbiditate este în general ridicat în toate țările. În S.U.A., statisticile din 1955—1956, arată că 55 000 000 persoane sînt infectate; dintre acestea 1 200 000 au forme clinice; anual se depistează, 80 000 noi cazuri de tuberculoză. În general și în toate țările, cifra mortalității s-a redus în mod constant între anii 1910 și 1948.

Receptivitate. Specia umană este sensibilă față de bacilul tuberculozei; se constată însă unele diferențe de receptivitate între diversele rase și între diversele populații. Astfel, albii sînt mai rezistenți ca negrii. Datele statistice, publicate în Statele Uníte, de Guralnick și Glaser (1948), pun în evidență net această diferență care se referă nu atît la receptivitate, cît la gravitatea infecției. Intr-adevăr, procentul de mortalitate între anii 1910 și 1948 a fost mult mai mic la albi ca la negri. Astfel, mortalitatea din cauza tuberculozei și pentru 100 000 de locuitori este arătată în tabelul 47. Evreii, care locuiesc de multe milenii în orașe, par a fi mai rezistenți ca populațiile venite mai recent în viața de aglomerație. In general, citadinii sînt mai rezistenți decît țăranii. Diferențe de receptivitate se mai semnalează în raport cu sexul, vîrsta și individul. Unii indivizi sînt mai receptivi ca alții; copiii sînt mai receptivi ca adulții. Bărbații sînt mai receptivi decît femeile și primii dau un procent mai mare de mortalitate. In S.U.A., în 1948, din 100 000 de decese la bărbați, 33,3 erau datorite tuberculozei, și din 100 000 de femei moarte, numai 15,4 au decedat din cauza tuberculozei.

Tabelul 47

Anul	Albi	Nealbi (negri și galbeni)
1910	150	450
1920	100	160
1930	70	190
1940	46	135
1948	30	80

Omul, ca și animalele, se naște cu o receptivitate absolută față de bacil și, din această cauză, mortalitatea la copiii care se infectează în primele 3 luni după naștere este de 100%. Ea se reduce la 30—40% la copii în vîrstă de 3 luni — 2 ani.

Procentul ridicat de mortalitate pentru copiii nou-născuți a făcut ca mult timp să se admită că tuberculoza este o boală ereditară transmisibilă. Această ipoteză nu a fost confirmată ci, din contră, numeroase observații o infirmă. Astfel, copii născuți din mame tuberculoase, scoși îndată după naștere din mediul infectat și crescuți în afara contagiului rămîn indemni de tuberculoză. Aceste observații arată deci că procentul ridicat de mortalitate întîlnit la copii mici crescuți în medii puternic infectate, se datorește nu eredității, ci lipsei de imunitate, totalei receptivități a organismelor lor față de bacil. Aceste constatări sînt valabile nu numai pentru om, ci și pentru animale.

Calea de infecție. Bacilul tuberculozei pătrunde în organismul uman prin mucoase și numai rareori prin piele. Mucoasele digestive și respiratorii sînt permeabile pentru bacil și prin ele se realizează de cele mai multe ori, infecția.

Tipul infectant. Omul este sensibil și se infectează cu tipul uman sau cu tipul bovin și numai excepțional cu tipul aviar. Acest din urmă tip produce, de regulă, forme benigne de boală.

Problema tuberculozei bovine la om prezintă o deosebită importanță și ea a început a fi cercetată după 1920, pînă atunci considerîndu-se ca valabilă opinia exprimată de Koch în 1901, la congresul de la Londra, după care tipul bovin nu este patogen pentru om. Prima tulpină bovină prezentă în leziuni umane a fost izolată de Ravenel, în 1902. Pînă în 1922 se identificase, în total, patru cazuri de infecții umane cu bacili bovini. După această dată s-au făcu numeroase cercetări în diverse țări ca Anglia (Griffits), Danemarca (Jensen), Germania (Wagener), S.U.A. (Park), Franța (Meyer și col.), Grecia (Ananiades și col.), Polonia (Piasecka-Zeyland) etc., identificîndu-se numeroase cazuri de tuberculoză umană produsă de bacilul de tip bovin. Aceste cercetări au atras atenția lumii medicale asupra pericolului pe care îl constituie tuberculoza bovină pentru sănătatea publică, dezmințindu-se astfel afirmația lui Koch după care bacilul bovin nu este patogen pentru om. Koch, în susţinerea ipotezei sale s-a sprijinit, în primul rînd, pe nepatogenitatea bacilului uman pentru bovine, deci pe o diferenţă esenţială existentă între cele două tipuri şi, în al doilea rînd, pe faptul că, din punct de vedere epidemiologic, nu se putuse stabili, la acea dată (1901), o relaţie între infecţia bovină şi umană.

Tipul bovin a fost, de exemplu, găsit în leziunile pulmonare de la adult. Astfel, Hedvall (1942) în Suedia, identifică bacilii bovini în leziuni pulmonare umane în proporţie de 6%. Procente asemănătoare au fost găsite în Olanda (6,4%), în Danemarca (5%). În Germania, Lange (1931, 1937) constată că printre 40 de persoane cu leziuni pulmonare, 8 erau eliminatoare de bacili bovini. În localizările extra-pulmonare tipul bovin este, în unele ţări, mai ales la copii, mai frecvent decît tipul uman.

În Anglia, de exemplu, bacilul bovin este găsit în tuberculoza ganglionilor cervicali şi axilari în proporţie de 86% la copii de la 0 la 5 ani, în proporţie de 48% la copiii de la 5 la 15 ani şi în proporţie de 22% la persoanele care au depăşit vîrsta de 15 ani. În Germania, în aceeaşi localizare, bacilul bovin este găsit la 49% din copiii de la 0 la 5 ani, de 39% la cei cuprinşi între 5 şi 15 ani şi de 10% la cei mai mari de 15 ani (vezi literatura în Görttler şi Weber, 1954—1955).

Görttler şi Weber, totalizînd datele din literatură pînă în 1952 (în total 93 000 de cazuri), care se referă la tipul bacilului găsit în diverse leziuni umane, ajung la următoarele cifre care sînt rezumate în tabelul 48.

Tabelul 48

Frecvenţa tipului bovin în diverse leziuni tuberculoase umane (după Görttler şi Weber)

Felul tuberculozei din care s-a izolat tulpina	Numărul total de tulpini cercetate	Numărul de tulpini bovine găsite	Procentul de tulpini bovine
Pulmonară	44 990	1 893	4,21
Meningială	4 955	709	14,31
Osoasă şi articulară	4 469	925	20,70
Cutanată	2 948	799	27,10
Ganglionii cervicali şi axilari	2 648	1 066	40,26
Chirurgicală	1 347	245	18,19
Extrapulmonară	1 154	54	4,68
Abdominală	998	365	36,57
Generalizată	817	85	10,40
Urogenitală	513	39	7,60

Infecţiile cu tip bovin sînt mai răspîndite în ţările nordice, ca în cele sudice. Astfel, în Anglia tipul bovin este găsit, în infecţiile umane, în proporţie de 9,4%. în Danemarca în proporţie de 12,4%, în Germania în proporţie de 9,6%, în Elveţia în proporţie de 13,9%, în S.U.A. în proporţie de 10,4%. In ţările sudice, acest procent este mai redus: el este de 1,9% în Italia, de 2,6% în Franţa (Görttler şi Weber, 1954—1955), de 1,7% în Ungaria (Mündel şi Strempel, 1936). In Grecia, s-au examinat 437 de tulpini şi nu s-a găsit nici una bovină. In ţara noastră, Gueritée (1944) a examinat 75 de tulpini izolate din leziuni pulmonare umane, găsind că 74 erau de tip uman şi numai 1 era mixtă. Infecţia umană cu tip bovin pare a fi foarte rară în Romînia.

Reiese din totalitatea acestor date că, în special, în ţările nordice, problema tuberculozei de origine bovină, la om, este destul de gravă. Transmiterea contagiului se face de cele mai multe ori prin lapte şi prin contact cu animalele bolnave. In general, tuberculoza cu tipul bovin, la om, este mai frecventă în mediu rural, unde se consumă mai frecvent lapte crud şi unde contactul cu animalele bolnave este, prin natura ocupaţiei, mai des. Prin pasteurizare nu se asigură totdeauna distrugerea bacililor din lapte. Wagener şi Reus (1955) în Germania, au găsit bacilul tuberculozei în 5,83% din probele de lapte pasteurizat examinat.

Infecţii cu tipul aviar, la om, au fost semnalate de Deutsch (1925), Trius şi Klebanova (1930), Löwenstein (1928), etc. iar la noi în ţară de Nicolau şi Blumenthal (1929). Intervenţia tipului aviar în procese patologice umane constituie însă o rară excepţie şi acest tip trebuie considerat, practic, ca apatogen pentru om.

Materialul infecţios. Infecţiile cu tip uman se transmit de regulă, prin contact de la om la om şi excepţional de la animal la om. Omul tuberculos, în special bolnavii cu leziuni pulmonare deschise, elimină cantităţi enorme de bacili prin spută. In cursul vorbirii, tusei etc., aceşti oameni răspîndesc în jurul lor cantităţi enorme de bacili care se depun pe faţa şi mucoasele aparente ale celor ce se găsesc în jurul lor. Laptele femeilor bolnave de tuberculoză poate conţine bacili şi poate constitui un material infecţios. Verge (1947) a examinat 104 probe de lapte de femeie şi a găsit 16 probe pozitive.

Infecţia cu tipul bovin este de origină animală, şi, în special, bovină. Laptele pare a fi materialul infecţios cel mai important, din punct de vedere al transmiterii tipului bovin la om.

Prezenţa bacilului tuberculozei în lapte a fost pusă în evidenţă de numeroşi cercetători (vezi literatura în Grolier şi Voiculescu, 1939). In ţara noastră, Constantinescu a găsit, în 1913, că laptele de pe piaţa Bucureştilor era infectat în proporţie de 6,43%, iar Tacu, în 1939, găseşte pentru laptele de pe aceeaşi piaţă o proporţie de 5,4%. Verge (1947) stabileşte că laptele vacilor tuberculoase conţine bacili în proporţie de 7,78%. Numărul bacililor din lapte variază de la un caz la altul. S-au găsit probe de lapte foarte bogate, care infectează cobaiul în diluţie de 1/10 000 sau chiar 1/1 000 000.

Rolul infectant al laptelui pentru om nu este pus la îndoială. Este îndeobşte cunoscut că tuberculoza umană cu tipul bovin este mai frecventă în ţările nordice, care consumă lapte crud şi care au un procent ridicat de animale tuberculoase, decît în cele care fierb laptele şi au un procent redus de vaci infectate. In Anglia, s-a putut constata, de exemplu, că 75% din copii locuind în regiuni în care bovinele sînt mult infectate cu tuberculoză reacţionează la tuberculină, în timp ce în regiunile cu puţină sau fără tuberculoză la bovine, procentul reacţiilor pozitive la tuberculină este numai de 20%. Este sigur deci că laptele tuberculos măreşte reacţiile pozitive la tuberculină, dar, după unele observaţii, el nu măreşte procentul de morbiditate şi mortalitate tuberculoasă, ci, din contra, îl scade. Cercetările făcute de Holm (1945) cu privire la tuberculoza infantilă în două provincii din Anglia, una avînd foarte multe bovine infectate şi alta foarte puține, au arătat că în provincia infectată 1/3 din copii dădeau reacții pozitive la tuberculină, iar în cea neinfectată numai 1/9 erau pozitivi la tuberculină. Procentul copiilor cu leziuni clinice era însă de 2,5 mai mare în această din urmă provincie ca în prima care avea un procent ridicat de copii tuberculino-pozitivi din cauza consumului de lapte infectat. Consumul laptelui infectat cu bacili bovini pare că duce la instalarea unor leziuni neevolutive, care sensibilizează copilul la tuberculină și-l vaccinează.

Această acțiune vaccinantă a laptelui tuberculos, chiar dacă este o realitate, nu poate și nu trebuie să constituie un motiv de a nu combate tuberculoza la bovine.

Dacă în unele cazuri acest mod de vaccinare nu este periculos, în altele el pune în pericol sănătatea omului; copiii mici, de exemplu, sînt sensibili la tipul bovin pe cale digestivă și se pot deci infecta. Un lapte care conține un număr prea mare de bacili nu mai este vaccinant, ci infectant. In toate cazurile infecția cu bacilul bovin împiedică normala dezvoltare a copiilor și le reduce puterea de muncă.

In afară de lapte, bacilul a mai putut fi găsit și izolat din unt, frișcă, brînză și iaurt. Grölier și Voiculescu (1939), de exemplu, găsesc în Franța bacilul tuberculozei într-o probă de unt din 22 examinate, în patru probe de frișcă din 22 examinate și într-o probă de iaurt din 8 examinate.

Evoluția infecției. Infecția tuberculoasă îmbracă la om cinci aspecte principale, și anume:

1. septicemia bacilară; granulia;
2. infecția latentă;
3. infecția evolutivă cu localizări pulmonare;
4. localizări pleurale;
5. diverse alte localizări.

Septicemia bacilară se dezvoltă la copii și, în general, la persoanele virgine de orice contact tuberculos. Infecția poate fi confundată clinic cu febra tifoidă și a mai fost numită, pentru acest motiv, tifobaciloză. Simptomele sînt cele ale septicemiilor: febră 39—40°C și stare generală foarte rea. Această stare durează 3—4 săptămîni; unii bolnavi mor în această fază a bolii, prezentînd, la autopsie, leziuni congestive în toate organele. Moartea, în faza septicemică a infecției, nu survine decît rar la om; cei mai mulți bolnavi par că se remit. Această remitere corespunde, din punct de vedere anatomic, localizării bacililor din sînge în organe. Intr-adevăr, acești indivizi care au fost febrili timp de 3—4 săptămîni și care pe urmă au prezentat semnele unei vindecări fac, mai tîrziu, fie o granulie tuberculoasă, fie o tuberculoză pulmonară, pleurală sau meningeană.

Infecția latentă este consecința pătrunderii în organism a unui număr redus de germeni virulenți sau chiar a unui număr mai mare, însă de germeni puțin patogeni. Bacilii, în acest caz, constituie, în general, în ganglionii limfatici, unul sau mai mulți tuberculi. Asemenea leziuni sînt foarte frecvente la copii și sînt localizate, mai cu seamă, în ganglionii traheo-bronșici sau mediastinali. Infecția poate rămîne în stadiu limfatic ganglionar un timp variabil, uneori foarte lung, conferind, prin prezența ei, o stare de premuniție, de rezistență față de o nouă infecție. Prezența unei leziuni ganglionare nu tulbură normala funcționare a organismului; ea îi conferă sensibilitate față de tuberculină. Leziunea ganglionară se poate, cu timpul, vindeca, după cum ea poate fi și originea unei tuberculoze evolutive. O infecție latentă poate fi transformată într-una evolutivă cu concursul diverșilor factori ajutători, care slăbesc aparatul defensiv al organismului.

Tuberculoza pulmonară. Bacilul tuberculozei se localizează mai frecvent în pulmon decît în alte organe[1]; receptivitatea pulmonului se datoreşte structurii şi fiziologiei acestui organ. In capilarele alveolelor pulmonare, circulaţia sanguină şi cea limfatică sînt mult încetinite, înlesnindu-se astfel oxigenarea sîngelui; această viteză redusă a torentului limfatic şi sanguin permite depozitarea elementelor figurate care se găsesc în aceste lichide. Pentru acest motiv, polinuclearele moarte din cauza unei intoxicaţii bacilare, precum şi bacilii tuberculozei vii sînt reţinuţi într-o mai mare măsură în pulmon ca în alte organe şi de aceea localizările pulmonare sînt cele mai frecvente. Tot aşa se explică frecvenţa mare a localizărilor la vîrful pulmonului, în raport cu restul organului, căci ţesutul pulmonar, spre vîrfuri, este mai puţin elastic şi este prevăzut cu o vascularizaţie mai fină ca în alte regiuni. Aceste proprietăţi fac ca circulaţia, în această regiune, să fie mai încetinită ca în altele şi deci bacili ca şi polinuclearele purtătoare de bacili pot mai uşor sedimenta şi adera pe pereţii vaselor.

Leziunile pulmonare pot consta din noduli miliari, care sînt cu atît mai numeroşi cu cît însămînţarea organului a fost mai masivă; tuberculii pot conflua constituind formaţii mai mari, care se cazeifică, conţinutul se elimină, lăsînd în urma lor o cavernă pulmonară.

Localizările pleurale sînt, din cauza legăturilor anatomice dintre aceste seroase şi pulmoni, destul de frecvente la om, şi o consecinţă a unei infecţii pulmonare. Bacilul tuberculozei provoacă, fie aderenţe interpleurale — pleurezii uscate — fie secreţii seroase. Inflamaţiile pleurelor umane sînt în marea lor majoritate, produse de bacilul tuberculozei.

Alte localizări. Bacilul tuberculozei se poate localiza şi în alte organe şi ţesuturi în afara pulmonului şi pleurelor. Seroasele, ganglionii limfatici, mucoasele, pielea etc., oferă bacilului bune condiţii de fixare şi vegetaţie; în consecinţă peritonitele, maningitele, laringitele, hepatitele tuberculoase etc., se pot întîlni la om.

Localizările pe oase şi pe seroasele articulare duc la constituirea de osteite şi artrite tuberculoase: aceste din urmă localizări sînt mai frecvente la adulţi ca la bătrîni şi copii. Localizările cutanate, cunoscute sub numele de „lupus", au o evoluţie benignă. Localizările intestinale sînt, în marea lor majoritate, de origine hematogenă, sînt autoinfecţii. Leziunile constau fie din noduli, fie din ulcere de formă variabilă şi cu marginile neregulate; aceste din urmă leziuni se manifestă clinic prin diaree rebelă.

Diagnostic. Clinica umană dispune de numeroase mijloace care asigură diagnosticul tuberculozei. Depistarea formelor incipiente, subclinice, de tuberculoză, se face prin radioscopii periodice şi mai puţin prin tuberculinizări. Tuberculinizarea se face inoculînd, în dermul braţului, tuberculina brută diluată 1/5 000 — 1/10 000. Tuberculoşii fac la locul de injecţie o reacţie inflamatorie, însoţită uneori şi de reacţii generale şi focale. Apariţia, după tuberculinizare, a acestor reacţii generale şi focale, care pot influenţa defavorabil evoluţia unei infecţii constituie un impediment în generalizarea tuberculinizării ca metodă de diagnostic. Tuberculinizarea nu are valoare de diagnostic a tuberculozei ca boală decît la copii, deoarece adulţii pot fi alergici fără a fi bolnavi.

Leucoliza tuberculinică este folosită, în ultimul timp, ca test de laborator pentru diagnosticul tuberculozei umane. Reacţia se sprijină pe constatarea că leucocitele tuberculoşilor sînt lizate de tuberculină. Proba se execută astfel: peste 0,4 ml de soluţie 4% citrat de sodiu se recoltează 1,6 ml de sînge recoltat din venă; se agită şi amestecul se repartizează în două tuburi Wassermann; în primul tub se adaogă 0,1 ml de tuberculină diluată 1/30, iar al doilea 0,1 ml de ser fiziologic; din ambele tuburi se numără leucocitele imediat și după 2 ore la 37°C. Reacția este socotită pozitivă cînd, după 2 ore la 37°C, numărul leucocitelor din tubul cu tuberculină a scăzut cu cel puțin 25% față de tubul-martor. Lengyel și colaboratorii (1953) au aplicat această reacție și au obținut rezultate satisfăcătoare în diagnosticul tuberculozei oculare.

---

[1] După datele publicate de Guralnik şi Graser (1948), moartea a fost datorită, într-un procent de 92,2%, localizărilor pulmonare pentru decesele înregistrate în 1948 în S.U.A.

Profilaxie. Se obțin rezultate prin măsuri generale de igienă, alimentație, protecția muncii, depistarea bolnavilor și izolarea lor. Asanarea tuberculozei, la bovine, poate constitui un factor important în combaterea tuberculozei la om.

Tratament. Medicina s-a limitat, pînă în ultimul timp la un tratament simptomatic, în general puțin eficace. Introducerea antibioticelor — streptomicina — singure sau în asociație cu unii compuși chimici ca acidul paraminosalicilic, remifonul etc., a ridicat mult procentul de vindecări, chiar în unele forme grave și au făcut să dispară pronosticul fatal al unor forme, cum sînt cea laringiană și meningeală.

Jones și colaboratorii (1949) relatează în această privință, un caz în care s-a obținut rezultate bune cu streptomicina. Este vorba de o femeie care și-a injectat, intravenos. 1 ml de suspensie de bacili ai tuberculozei virulenți, făcînd consecutiv, o granulie tuberculoasă. A fost tratată cu 241 g de streptomicină timp de 105 zile și s-a vindecat.

Tuberculoza la bovine

Infecția tuberculoasă la bovine este precis identificată în secolul al XIX-lea. Gurlt (1831), inspirîndu-se din lucrările lui Laënnec, afirmă că nodulii găsiți în pulmon la unele bovine se aseamănă cu cei întîlniți la oamenii tuberculoși. Chauveau (1868) demonstrează transimisibilitatea tuberculozei bovine reușind să infecteze 3 vițele cu material provenind de la o vacă tuberculoasă. În fine, Koch (1884) demonstrează în mod definitiv existența tuberculozei la bovine. Autorul identifică bacilii în leziunile tuberculoase ale acestei specii, izolează bacilul în cultură pură și reproduce infecția la diverse specii animale cu aceste culturi.

Arie geografică și receptivitate. Tuberculoza bovină ca și cea umană este răspîndită peste tot pămîntul, dar procentul de animale infectate variază, în limite largi, de la o țară la alta, de la o regiune la alta. Astfel, în unele țări în care se practică exploatarea intensivă a bovinelor, procentul de animale tuberculoase atinge cifra de 80%, în timp ce în altele, printre care și țara noastră, el este de 3—10%. În Franța el este, de exemplu, de 8,5%. Vuillaume, 1955. Procentul redus de animale tuberculoase se menține, de mult timp, la același nivel, la noi în țară. Riegler (1905) dă, pentru anii 1897—1898, de exemplu, un procent mediu de 5%. Procentul bovinelor tuberculoase, descoperite în abatoarele din țara noastră, nu depășește cifra de 10%. Marcu, într-o statistică publicată în 1915, arată că la abatorul din Brăila, a găsit un procent de 10% pentru 5 394 de boi examinați și un procent de 7% pentru 6 356 de vaci examinate. Cornea, pentru intervalul 1932—1937, a găsit că procentul de vaci tuberculoase, descoperit în abatoare, este de 1,37%, iar pentru celelalte bovine adulte, exceptînd vacile, el este de 0,47%. Tineretul bovin, după același autor, este puțin infectat, procentul de animale purtătoare de leziuni fiind de 0,02%. Variații importante se constată şi în ceea ce priveşte diversele regiuni ale ţării. Astfel, în Regiunea Autonomă Maghiară procentul de bovine tuberculoase a fost de 0,6%, în 1952.

Toate rasele de bovine sînt egal de sensibile faţă de infecţia tuberculoasă. Se admitea că rasele primitive, cu producţie redusă, sînt mai rezistente ca rasele perfecţionate de mare producţie, dar această afirmaţie nu corespunde realităţii. Riegler a arătat, încă din 1905, că bovinele indigene, ţinute în grajduri, se tuberculizează în proporţie de 50—65%, în proporţii deci tot aşa de mari ca şi cele de rase perfecţionate. Nu există diferenţe de sensibilitate însemnate nici în ceea ce priveşte vîrsta. În general, animalele tinere sînt mai sensibile ca cele adulte, dar în abatoare procentul de animale tuberculoase creşte o dată cu vîrsta. Procentul este într-adevăr, mic la viţei şi mai mare la animalele bătrîne, aşa cum reiese şi din datele culese, la noi în ţară, de Cornea. Aceste diferenţe nu sînt legate de o stare de receptivitate mai ridicată a animalelor bătrîne, ci de factori epizootologici, de ocaziile pe care le-au avut aceste animale de a se infecta.

Tipul infectant. Tuberculoza evolutivă la bovidee este produsă numai de tipul bovin. Tipul uman şi tipul aviar nu sînt patogeni şi nu au fost izolaţi decît excepţional din leziunile tuberculoase ale bovinelor. Astfel, tipul aviar a fost găsit în laptele unor vaci cu mamite (Plum, 1926 şi 1931). Griffith găseşte acelaşi bacil în ganglionii mezenterici la o vacă, iar Kossel şi colaboratorii (1905) găsesc unele leziuni ganglionare la un viţel căruia i s-au administrat, per os, bacili aviari. Mitchel (1930) observă că o vacă infectată cu bacili aviari mai elimină încă bacilii prin lapte după 7 luni. Stuart şi Marshall (1952) identifică la o vacă o mamită produsă de asemenea de bacili aviari. Infecţii cu bacili umani, la bovine, sînt rare. Pînă în 1941, s-au identificat de-abia zece cazuri.

Izvoarele de infecţie. Principalul izvor de infecţie îl constituie animalul infectat. Bovinele infectate, oricare ar fi forma de tuberculoză pe care o prezintă, elimină în mod constant bacili în mediul ambiant. Ele se comportă deci diferit de om, la care eliminarea bacililor nu se face decît în anumite forme de tuberculoză.

În afară de animalele infectate, grajdurile, platformele de bălegar, padocurile, păşunile pot fi, după Juşkoveţ, izvoare de infecţie, în cazul cînd ele conţin bacili eliminaţi de animalele bolnave sau aduse de diverşi vehiculanţi. Păsările răpitoare pot duce bacili la mari depărtări, o dată cu resturile de cadavre pe care le consumă, şi mai mult încă, bacilii consumaţi o dată cu carnea pot fi eliminaţi vii de aceste păsări, prin materiile lor fecale.

Omul infectat cu bacili bovini poate transmite infecţia la bovine. (Bogdanov şi col. 1952). Plum (1935) a dovedit, în această ordine de idei, că expectoraţiile eliminate de un om cu leziuni pulmonare produse de tipul bovin pot infecta vacile. Autorul a infectat două vaci adulte şi trei viţei cărora le-a administrat, la 5 zile interval, spută virulentă şi bogată în bacili (animalele au primit între 333 şi 5 996 milioane de germeni). Toate au dat reacţii pozitive la tuberculină, unele chiar 10 zile după ultima administrare şi la toate s-au găsit leziuni de tuberculoză la autopsia făcută după sacrificare (124—148 de zile după prima administrare de bacili). Leziunile erau localizate fie numai la tubul digestiv (ganglionii mezenterici), fie la tubul digestiv și pulmon, ganglioni bronhici și retrofaringieni.

Poarta de intrare. La animalele adulte, bacilii pătrund în organism, în marea majoritate a cazurilor, 90% după Nieberle, pe cale respiratorie și mai rar, 10%, pe cale digestivă sau pe alte căi (mamară, cutanată, genitală etc.). Intr-adevăr, inhalaţia bacililor asigură, în condiţii experimentale, infecţia și apariţia leziunilor pulmonare. In condiţii naturale infecţia se produce prin bacili răspîndiţi în aerul grajdurilor de către animalele infectate și care ajung, prin inspiraţie, în alveolele pulmonare. Calea digestivă este mai puţin propice ca cea respiratorie, dar infecţii, dadatorită pătrunderii bacililor la nivelul intestinului subţire, se pot produce la bovinele adulte și mai ales la viţei. Bacilii pătrund prin mucoasa intestinală intactă, fără a lăsa, de regulă, vreo urmă la locul de pătrundere și trec în ganglionii mezenterici, unde produc leziunea primară. Infecţia glandei mamare se poate face direct sau pe cale hematogenă. La viţei, leziunile primare sînt situate, după Nieberle (1954), în 48% din cazuri în ficat, în 39% în pulmon și în 13% în tubul digestiv, ceea ce înseamnă că în primul caz infecţia este de origine congenitală, în al doilea aeriană și în al treilea alimentară (lapte cu bacili).

Evoluţia infecţiei. Simptomele clinice variază în raport cu localizarea leziunilor, cu amploarea și cu rapiditatea cu care ele evoluează. Tuberculoza miliară a pulmonului evoluează ca o infecţie acută, cu caracter septicemic. Animalul este febril, nu mănîncă, slăbește. Febra este continuă. Boala durează 1—2 săptămîni și sfîrșește cu moartea. Această formă de evoluţie este de obicei rară.

Tuberculoza cronică cu localizări pulmonare începe și evoluează ca o bronșită. Animalul tușește mai ales cînd trece de la aerul cald al grajdului la aerul rece de afară. Tusea este la început uscată, dar, mai tîrziu, ea este grasă și însoţită de o expectoraţie muco-purulentă mai mult sau mai puţin abundentă. Inflamaţia bronhiilor se complică cu leziuni ale ţesutului pulmonar din jur și, în această fază a evoluţiei, ascultaţia și percuţia pot pune în evidenţă focare de bronhopneumonie. In general, aceste forme care scot din funcţiune porţiuni de pulmon se traduc printr-o mărire a pulmonului, printr-o depășire a limitelor anatomice normale.

Localizările pleurale și pericardice sînt greu de diferenţiat clinic de alte stări patologice.

Tuberculoza intestinală evoluează ca un catar cronic, care se manifestă clinic prin diaree. Materiile fecale, în fazele înaintate ale bolii, sînt rău mirositoare. Diferenţierea între enteritele tuberculoase și alte enterite bacteriene ca paratuberculoza, paratifoza, sau parazitare ca distomatoza, coccidioza etc. nu se poate face decît prin examenul de laborator și probe alergice.

Tuberculoza organelor genitale femele este relativ rară. Iniţial, infecţia se caracterizează prin nimfomanie, dar mai tîrziu, uneori apare o secreţie vulvară, muco-purulentă, de culoare galbenă sau gri, lipsită de miros de putrefacţie. Leziunile tuberculoase pot fi situate în pereţii vulvei, în pereţii uterini sau în cei ai trompei. Leziunile vulvei constau, fie dintr-o îngroşare a pereţilor, fie din prezenţa unor formaţii nodulare cazeoase : aceste leziuni se pot observa prin examen direct. Leziunile uterine sînt de acelaşi tip ca şi cele vulvare şi se pot pune în evidenţă prin palpaţie rectală. Alături de leziunile uterine se constată regulat şi tumefacţia ganglionilor aferenţi acestui organ, şi anume iliacii mediani, inguinalii profunzi şi hipogastricii. Endometrita tuberculoasă împiedică ovulaţia şi fecundaţia, şi în cazul cînd fecundaţia are totuşi loc sarcina nu este dusă la sfîrşit, din cauză că învelitorile şi chiar fetusul devin sediul unor leziuni tuberculoase evolutive. Fetusul. în aceste condiţii, moare şi este avortat. El prezintă leziuni de tuberculoză. De altfel, de cele mai multe ori, diagnosticul formelor uterine de tuberculoză se face prin examenul fetusului sau avortonului.

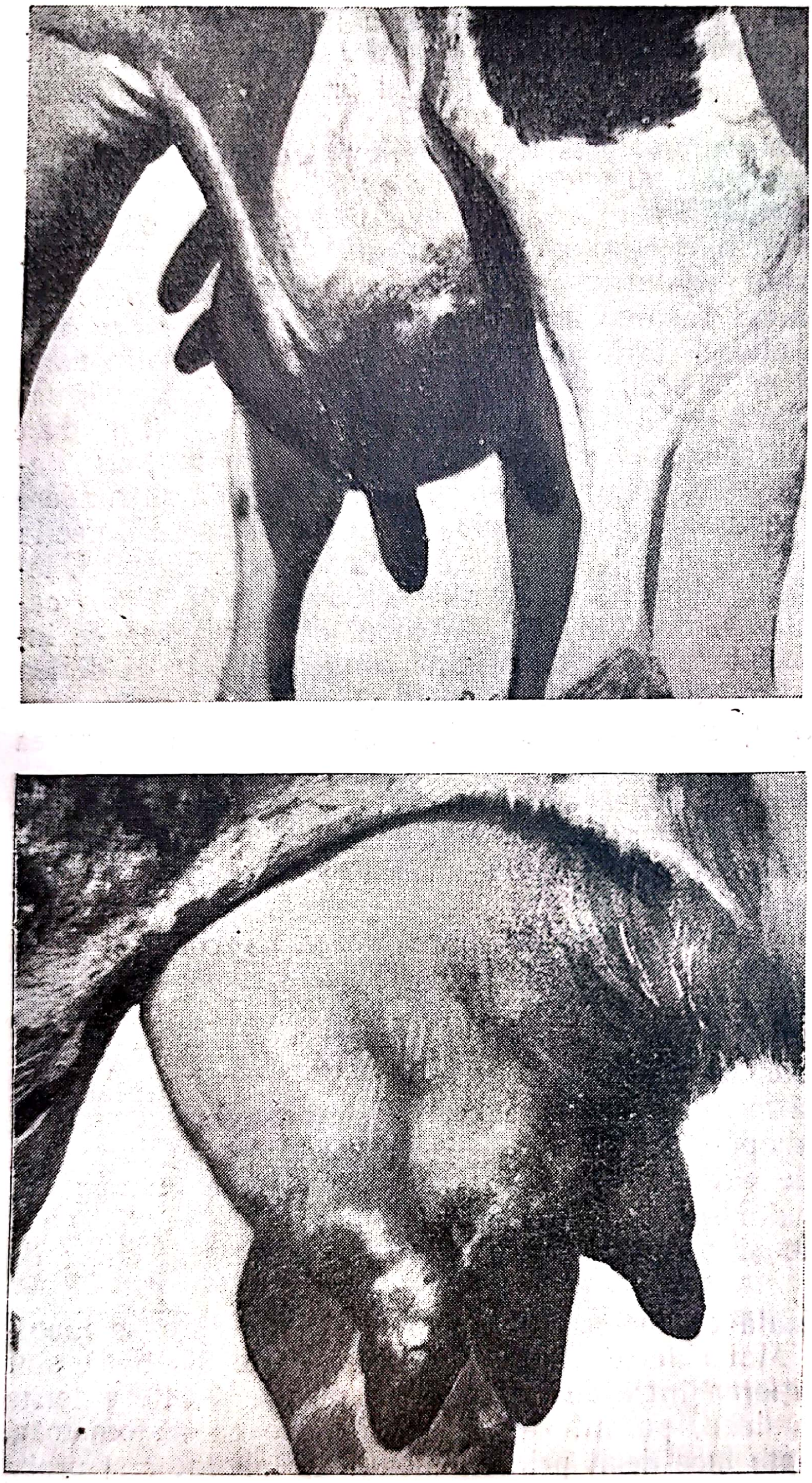


Fig. 79 — Tuberculoza ugerului la vacă

Localizările testiculare sînt rare. Tymniaek (1948) descrie un caz de localizare testiculară alături de leziuni pulmonare şi renale. Testiculele prezentau noduli şi erau hipertrofiate depășind de 2—3 ori greutatea normală. Unul din ei cîntărea 760 g și al doilea 1220 g. Taurul montase, în repetate rînduri, 16 vaci și toate aceste animale prezentau metrite și erau sterile.

Tuberculoza glandei mamare poate evolua acut sau cronic. Forma acută este o tuberculoză miliară a glandei, care își trădează prezența doar prin hipertrofia ganglionilor supramamari, formațiile nodulare din țesut neputînd fi puse în evidență prin palpație în timpul vieții. Forma cronică apare inițial ca o indurație a unei porțiuni din glandă. Leziunea este puțin vizibilă. Secreția glandei nefiind modificată cantitativ, iar modificările calitative neputînd fi puse în evidență decît printr-un examen de laborator, infecția trece neobservată de către personalul îngrijitor. Un examen atent al laptelui secretat de un cartier infectat pune în evidență prezența elementelor albe și a unei cantități mai mari decît normală de clor. Leziunea, inițial limitată la o mică porțiune din glandă, progresează cu timpul, și, în cele din urmă, un sfert sau chiar jumătate din glandă este indurată, mărită în volum, depășind astfel dimensiunile sferturilor sau jumătății neinfectate. Țesutul conjunctiv subcutan este edemațiat, hipertrofiat. Glanda infectată nu este dureroasă, ceea ce deosebește această mamită de alte infecții. Secreția laptelui este, însă, în această fază, oprită; se obține prin muls, un lichid de aspectul zerului, în care plutesc coagule de cazeină, celule albe, resturi celulare. Bacilii se elimină constant din glanda infectată în toate fazele de evoluție a bolii.

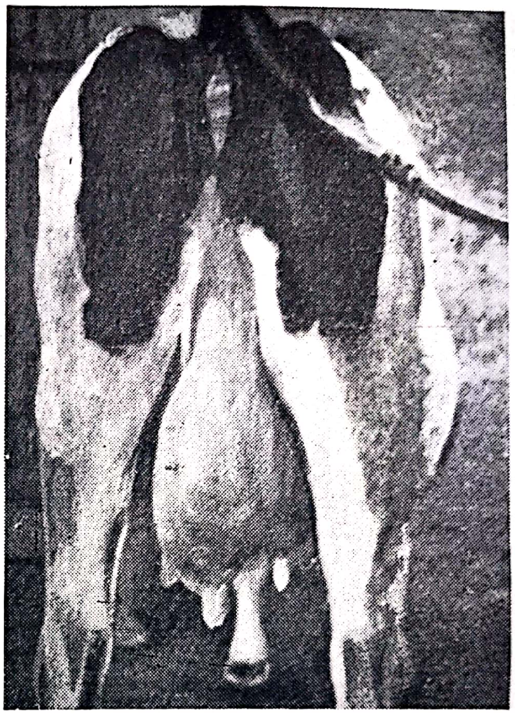


Fig. 80 — Vacă cu leziuni tuberculoase situate pe sfertul stîng posterior al glandei mamare (după **Ziegler**, 1953)

Ziegler (1953) distinge patru forme clinice și anatomopatologice de tuberculoză a glandei mamare, și anume:

1. forma miliară, care se întîlnește în 5—8% din cazuri și se caracterizează prin prezența în parenchimul glandular a nodulilor tuberculoși avînd cel mult mărimea unui bob de mazăre;
2. forma lobulară, infiltrată, care se întîlnește într-un procent de 90% și în care se disting trei faze evolutive: inițial, mediu și tardiv; cele trei faze se disting între ele prin intensitatea leziunilor; în faza tardivă se găsesc procese de cazeificare;
3. forma de mamită cazeoasă; într-o statistică făcută de **Ziegler** (1953) această formă a fost găsită în proporție de 2,8%; se caracterizează prin întinse procese de cazeificare;
4. forma mixtă în care uneori pe lîngă nodulii calcificați ai formei miliare se găsesc și procese infiltrative, iar alteori pe lîngă procese infiltrative sînt prezente și zone de cazeificare.

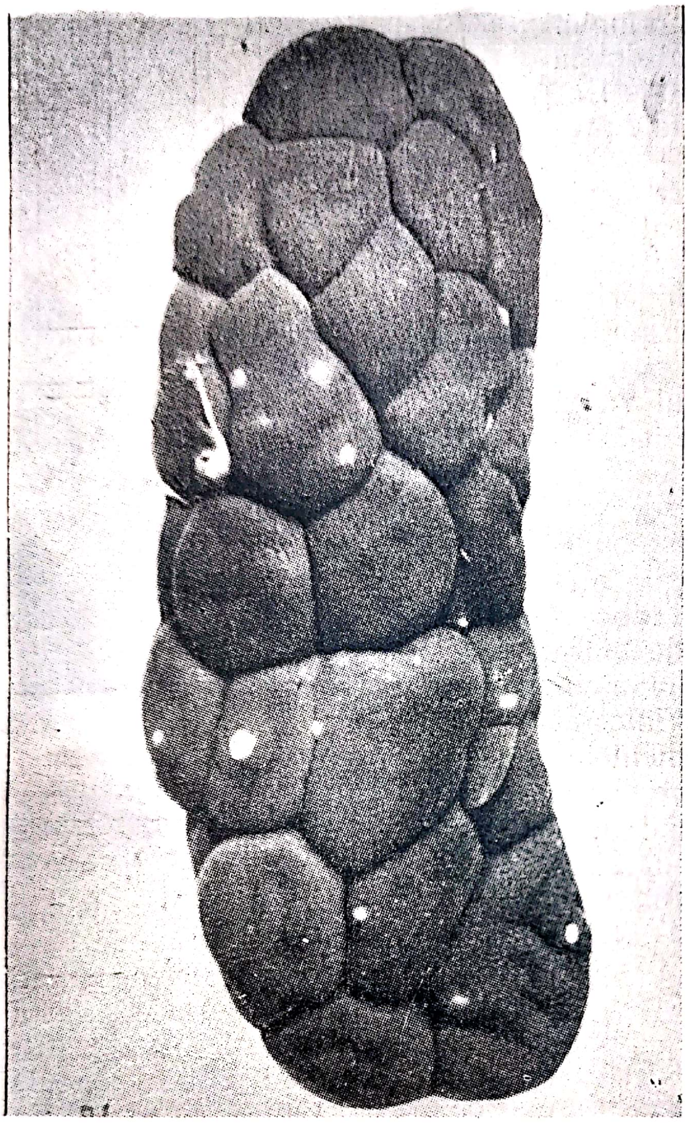


Fig. 81 — **Leziuni nodulare de natură tuberculoasă la rinichi de vacă**

Localizările pe sistemul nervos central — creier, bulb, măduva spinării — se manifestă clinic prin tulburări care variază în raport cu sediul leziunii și cu întinderea ei. Se pot observa astfel, în acest fel de localizări, tulburări motorii, respiratorii, cardiace etc. Diferențierea între tulburările nervoase de origine tuberculoasă și tulburările similare de altă natură sînt greu de făcut.

Tuberculoza oculară apare inițial ca un nodul situat pe iris sau pe corpii ciliari. Leziunea progresează cu timpul, și, în cele din urmă tot ochiul se transformă într-o masă cazeoasă.

Tuberculoza aparatului locomotor a fost descrisă de numeroși cercetători. Ea poate evolua ca o tuberculoză osoasă, cu deformarea osului și fistularizarea lui, sau ca o artrită tuberculoasă închisă sau deschisă. Evoluția este cronică. Tuberculoza renală este frecventă în forma generalizată a infecției. Leziunile nodulare localizate în rinichi pot fi uneori puse în evidență prin explorație rectală.

Tuberculoza cutanată a bovideelor este rară.

Pancreasul prezintă rar leziuni.

Leziunile tuberculoase se pot găsi în cele mai variate organe și țesuturi. Organele cel mai frecvent atinse sînt pulmonul și ganglionii limfatici, urmînd apoi diversele seroase, ficatul, rinichiul, splina, țesutul mamar, oasele, pielea.

Leziunile ganglionilor limfatici pot fi de tip hipertrofic sau nodular. Tipul hipertrofic se caracterizează printr-o mărime enormă a dimensiunilor, iar tipul nodular prin constituirea în masa ganglionilor a unor noduli cazeificați. Leziunile pulmonare pot consta din noduli de mărimi variabile uneori de aspect sarcomatos, din focare de hepatizație, din caverne etc. Leziunile seroaselor pleurale, pericardică, peritoneală, constau din îngroşarea acestor membrane şi constituirea, pe suprafaţa lor a unor formaţii nodulare de aspectul perlelor, de unde numele de tuberculoză perlată. În ficat, splină, rinichi etc., se pot găsi leziuni nodulare de mărimi variabile.

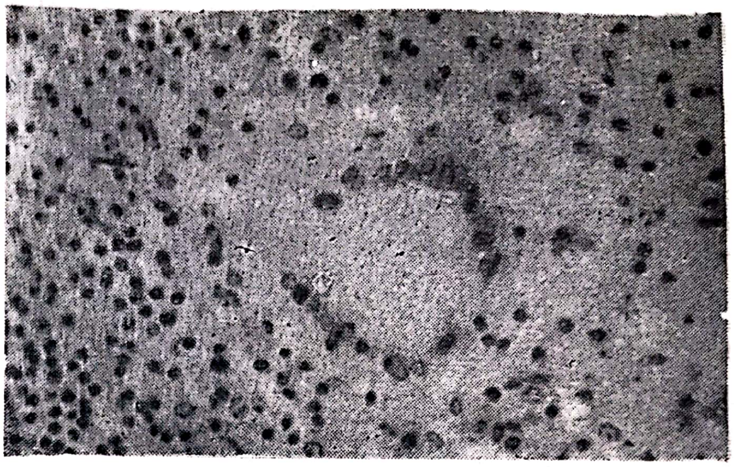


Fig. 82 — Celulă gigantă de tip Langhans
Tuberculoză la bou. Infecţie naturală

Leziunile sînt rar localizate pe mucoasă sau în peretele compartimentelor gastrice, dar se găsesc în peretele părţii finale a intestinului subţire şi în cecum, şi constau, fie din ulcere, fie din hipertrofii ale mucoasei şi submucoasei. Leziunile organelor genitale, testicul, penis, ovar, sînt rar întîlnite.

Tuberculoza osoasă este localizată, de regulă, la vertebre. Leziuni tuberculoase se pot întîlni pe meninge şi în creier, precum şi în miocard.

Diagnosticul tuberculozei bovine. *Examenul bacteriologic.* Dat fiind că în general, leziunile turberculoase ale bovinelor sînt paucibacilare (sărace în bacili), examenul pe lamă al produselor de expectoraţie dă rar un rezultat pozitiv; în plus, valoarea acestei metode de diagnostic este mult micşorată şi de faptul că în cavitatea bucală a bovideelor se găsesc frecvent bacili acidorezistenţi saprofiţi. Localizările pulmonare nu pot fi deci diagnosticate prin examen microscopic. Metodele bacteriologice de diagnostic pot da însă rezultate şi la animale, dar în alte localizări, cum sînt artritele, ulcerele cutanate, metritele, fistulele etc.

Astfel, examenul microscopic al scursorilor vaginale permite diagnosticul tuberculozei uterine într-un procent important de cazuri, 78,65% după Plum (1931). Prin inoculări la cobai, se mai descoperă, tot după Plum, încă 13%, iar 8% nu pot fi diagnosticate prin examen microscopic sau inoculări la cobai, deşi provin de la animale cu tuberculoză uterină. Probabil că aceste probe conţin prea puţini bacili sau nu conţin de loc bacili în momentul recoltării. Examenele repetate pot reduce procentul de eroare. De asemenea, de un real folos în precizarea diagnosticului este examenul histopatologic al leziunilor.

Diagnosticul mamitei tuberculoase mai ales în faza iniţială, nu se poate face decît prin examen microscopic. Se urmăreşte în frotiuri făcute direct din lapte, cît şi din sediment, atît prezenţa bacililor, cît şi felul celulelor. În mamitele tuberculoase se găsesc în sediment celule gigante cu sau fără bacili acido-rezistenţi, precum şi epiteloide şi limfocite. Prezenţa epiteloidelor şi celulelor gigante este o indicaţie aproape sigură că laptele examinat provine de la o vacă tuberculoasă.

Cultivarea bacililor din produsele patologice constituie o metodă mai precisă de diagnostic decît examenul direct, pe lamă ; ea poate da rezultate pozitive acolo unde examenul direct a fost negativ, din cauza rarității elementelor bacilare și ne permite să diferențiem bacilul tuberculozei de saprofiți acidorezistenți. Aceștia din urmă se dezvoltă la temperatura camerei în 3—4 zile, nu cresc la 37°C și sînt lipsiți de patogenitate.

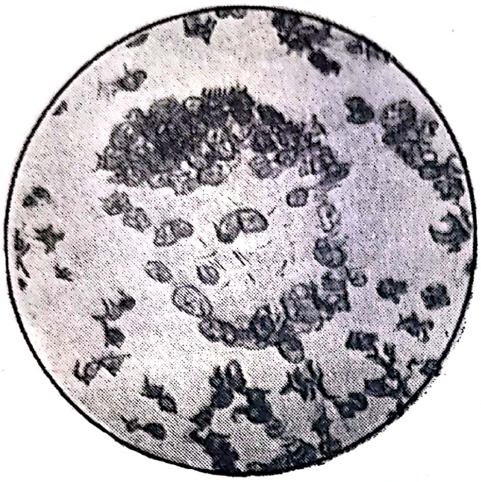


Fig. 83 — Sediment din laptele unei vaci tuberculoase

Se observă o celulă gigantă cu bacili acido rezistenți (după Ziegler, 1953)

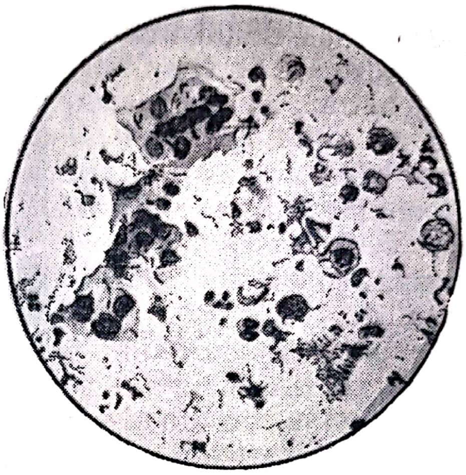


Fig. 84 — Sediment din laptele unei vaci tuberculoase

Se observă celule gigante cu bacili acidorezistenți, iar în restul frotiului se văd alte celule și mase de coci (după Ziegler, 1953)

Bacilii, după van Oijen (1934), pot fi puși în evidență uneori și în sînge, prin metode culturale sau biologice (inoculări la cobai).

Inocularea la animale de laborator, sensibile, constituie un prețios mijloc de diagnostic. Produsele patologice provenind de la mamifere și în care bănuim prezența bacililor bovini sau umani se inoculează pe cale subcutană sau intradermică la cobai; dacă materialul conține mulți germeni neacidorezistenți, el se tratează cu acid sulfuric sau hidrat de sodiu în aceleași condiții ca și pentru însămînțare.

Cobaiul, pentru descoperirea bacililor într-un produs patologic, este un reactiv mai sensibil ca mediile de cultură; constituirea, la locul de inoculare, a unui abces în care se găsesc bacili acidorezistenți este considerată ca o reacție pozitivă, adică materialul inoculat conține bacilul Koch.

Leucograma nu dă rezultate precise de dignostic. În formele cronice ea nu este modificată. În schimb, în cele acute, se constată o leucopenie (Patyra și Waclaw).

Probele serologice nu sînt curent folosite în diagnosticul tuberculozei bovine. Karkadinovskaia (1953) afirmă că reacția de fixare a complementului permite diferențierea formelor acute de cele cronice, reacția fiind pozitivă numai în formele cronice.

Reacția de hemaglutinare sau de hemoliză (Middlebrook-Dubos, 1948), cu hematii de oaie, încărcate cu un antigen extras din bacilii tuberculozei, permite diagnosticul formelor evolutive, clinice, de tuberculoză, la bovine, dar nu al formelor latente, localizate, subclinice (Simintzis și col., 1954, Elek și col. 1954).

Reacția de hemaglutinare se face în condițiile și cu materialele preparate, așa cum se arată mai jos.

1. *Extractele de bacilii tuberculozei.* Culturile de 14 zile, pe medii lichide, sînt trecute prin hîrtie de filtru, spălate cu apă distilată și acetonă (rece), depozitul de pe hîrtia de filtru fiind uscat la temperatura camerei. *Se lucrează sub iradiere constantă cu ultraviolete.* 4 g de material uscat este tratat apoi cu fenol și acetonă, reziduul este suspendat într-o soluție apoasă izotonică, și suspensia este agitată și centrifugată (30 de minute la 10 000 de ture unghiulare), apoi dializată ; se ajustează pH-ul la cifra 7 și se reizotonizează ; acest lichid servește la sensibilizarea hematiilor.

2. *Hematiile de oaie* sînt recoltate steril și în amestec, în părți egale, cu un anticoagulant și conservant. În aceste condiții ele pot fi păstrate, sterile timp de 3 luni la 4°C. Amestecul (cînd este neutru) este spălat de trei ori la 2 000 de ture, cîte 20 de minute, în 6 volume de soluție fiziologică, pentru 1 volum amestec. După îndepărtarea supernatantului, depozitul poate fi păstrat, ca atare la 4°C, 3 zile ; 50 ml de sînge dau, în medie 7 ml de hematii sedimentate.

3. *Sensibilizarea hematiilor cu extract.* 0,5 ml de depozit de hematii spălate sînt amestecate cu 10 ml de extract neutru, izotonic, de bacili. Amestecul este întîi bine agitat, apoi ținut 2 ore la baie de apă, la 37°C, unde este din nou agitat, de mai multe ori. Apoi, suspensia este centrifugată și supernatantul înlăturat. Depozitul este spălat de trei ori, cu 30 ml de ser fiziologic și, în cele din urmă suspendat în 100 ml de soluție salină sterilă, dînd ceea ce se numește 0,5% suspensie de hematii sensibilizate. Aceasta se poate păstra, la 4°C, 3 zile sau pînă ce hemoliza este evidentă.

Serurile, după recoltare, sînt diluate cu ser fiziologic 1 la 1 și încălzite 30 de minute la 56°C pentru inactivare.

Reacția se execută în condiții obișnuite (ca pentru Hirst), cu diverse diluții de ser, determinîndu-se capacitatea aglutinantă a serului de cercetat, față de hematiile sensibilizate.

Reacția de hemoliză a globulelor roșii (sensibilizate printr-un compus al bacilului tuberculozei) prin anticorpii serici și alexină poate fi de asemenea folosită la diagnosticul tuberculozei la om și la animale (Middlebrook, 1950; Gernez-Rieux și Tacquet 1951; Elek și col., 1954).

Materialele necesare executării reacției sînt :

1. Serul de cercetat inactivat și saturat în aglutinine naturale antioaie.
2. Globule roșii de oaie sensibilizate prin polizaharidul bacilar (Middlebrook) sau prin tuberculină (Gerner-Rieux și Tacquet)

Sensibilizarea se face astfel : 0,1 ml de depozit de globule roșii plus 1 ml de soluție tamponată de tuberculină ; amestecul se ține 2 ore la 37°C, agitîndu-se din 15 în 15 minute, apoi se centrifughează și depozitul obținut este suspendat în 20 ml de ser fiziologic.

3. Alexina de cobai proaspăt recoltată.

Executarea reacției. Serul de cercetat se distribuie în diverse diluții, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ etc., în tuburi în doză de 0,4 ml. Alexina diluată $^1/_3$ și saturată, în două reprize, cu hematii de oaie nesensibilizate, se adaogă în doză de 0,05 ml în fiecare tub (această doză trebuie să producă hemoliza totală a

1 ml de globule roșii de oaie în exces de ser antioaie). Globulele roșii sensibilizate în doză de 0,4 ml.

Se folosesc și trei martori, și anume:

a) soluție tamponată plus hematii sensibilizate;
b) serul de cercetat plus hematii nesensibilizate și alexină saturată;
c) hematii sensibilizate și alexină.

Totul este pus la 37°C și rezultatul se citește după 2 ore. O reacție este socotită pozitivă cînd se produce o hemoliză totală în tuburile în care sînt prezente toate elementele reacției și nu se produce în tuburile-martor.

Probe alergice de diagnostic. Tuberculinizarea constituie, pentru animale, cea mai precisă, cea mai simplă și cea mai comodă metodă de diagnostic; ea descopere, ceea ce este foarte important nu numai infecțiile clinice, cît și pe cele oculte. Principial, metoda se sprijină pe observația că indivizii infectați cu bacilul lui Koch reacționează diferit, în raport cu indivizii normali, față de injecția unei cantități mici de tuberculină.

Există cîteva procedee de executare a probelor alergice în vederea diagnosticului tuberculozei la animale. Vom examina pe cele mai uzuale.

Tuberculina folosită trebuie să fie controlată de laboratoare în ceea ce privește valoarea ei revelatoare. Pentru diagnosticul tuberculozei la mamifere, tuberculina se prepară din tulpini bovine sau umane, iar pentru păsări din tulpini aviare.

Metode folosite pentru tuberculinizarea bovinelor. Oftalmoreacția. Wolf-Eisner-Calmette au observat că depunerea unei picături de tuberculină în sacul conjunctival al unui om tuberculos provoacă o inflamație a mucoasei și a țesuturilor din jur. Cum un asemenea fenomen nu se întîmplă, în aceleași condiții, la indivizi indemni de tuberculoză, procedeul poate fi folosit în scop de diagnostic. Vallée a aplicat acest procedeu la bovidee și a obținut rezultate satisfăcătoare. Metoda oftalmoreacției se execută în felul următor: tuberculina brută, în cantitate de 1—3 picături, se depune în sacul conjunctival al animalului, masînd ușor pleoapele, pentru a răspîndi substanța pe toată suprafața mucoasei.

La animalele tuberculoase, 6—9 ore după depunerea tuberculinei, se constituie o tumefacție edematoasă a pleoapelor și o lacrimație abundentă; cîteva ore mai tîrziu, apare la unghiul intern al ochiului, o secreție muco-purulentă, care se usucă și formează o crustă. Reacția dispare după 2—4 zile. Intensitatea reacției nu este aceeași la toate animalele și de aici interpretarea uneori dificilă a acestei probe de diagnostic. Reacția este considerată pozitivă cînd apare o secreție muco-purulentă și dubioasă cînd se produce numai tumefacția pleoapelor. Reacțiile dubioase se pozitivează la animalele tuberculoase dacă operația se repetă după un interval variind de la 8 ore la 3 zile.

Reacția oftalmică nu sensibilizează animalele față, de tuberculină; în consecință, după oftalmoreacție se pot aplica și alte metode de diagnostic care folosesc tuberculina.

Procentul de erori pe care îl dă proba oftalmică este uneori mare. Ea nu poate fi aplicată la animalele cu catar ocular. Prin spălarea ochiului de către persoane interesate, ea poate fi falsificată.

Metoda prezintă însă avantajul simplității de aplicație și de aceea în unele țări a fost adoptată ca mijloc de selecție a animalelor sănătoase de cele tuberculoase sau suspecte. Ea se aplică la tot efectivul bovin. Bovinele cu reacții pozitive sau dubioase sînt separate de cele sănătoase și supuse altor probe alergice, care dau rezultate mai precise, dar sînt de o aplicație mai dificilă.

Proba intradermo-palpebrală. Tuberculina diluată 1/2 sau 1/4 se injectează în doza de 0,1—0,3 ml intradermic, într-una din pleoape; reacția pozitivă constă dintr-o tumefacție a pleoapei injectate și, eventual, apariția unei secreții muco-purulente la unghiul intern al ochiului. Tumefacția pleoapei este vizibilă după 6—8 ore, atinge maximum de intensitate după 24—36 de ore și dispare după cîteva zile. Reacția locală este însoțită și de fenomene generale, în special febră.

Proba intradermică evită lezarea ochiului, care este posibilă în metoda palpebrală și se poate aplica chiar la animalele febrile sau foarte tinere (viței de 3—4 luni sau mai puțin). Metoda a fost aplicată, pe o scară largă, în diagnosticul și combaterea tuberculozei întîi în Finlanda, în 1910, apoi și în alte țări, constituind astăzi, aproape exclusiv, singura metodă practică.

Tuberculina, diluată 1/2 sau 1/4, se injectează în doză de 0,1—0,2 ml strict intradermic, fie în pliul cozii, fie pe o latură a gîtului. În unele țări se practică numai injecția în dermul de pe o latură a gîtului, în altele, cum este Franța, de exemplu (Vuillaume, 1955), medicii veterinari pot folosi la alegere un loc sau altul pentru a injecta tuberculina.

La animalele tuberculoase se produce o tumefacție locală, urmată uneori, în special în cazul injecției în pliul cozii, de hemoragii și necroză a pielii; intensitatea maximă a tumefacției este atinsă 36—72 de ore după injecție și, în consecință, reacția trebuie citită, în acest interval de timp. În cazul injecției în pliul cozii, tumefacția este bine vizibilă cînd se ridică coada în sus și cînd se compară pliul injectat cu cel neinjectat. Cînd tuberculina a fost injectată pe o latură a gîtului, se măsoară cu un cutimetru (Schublehre) pielea normală dinainte de injecție, iar apoi după injecție. La același animal, se fac deci două măsurători: una asupra pliului normal înainte de injecție, și alta asupra aceluiași pliu după 24—48 de ore de la injectarea tuberculinei. Reacția pozitivă se traduce printr-o tumefacție a pielii injectate. Gradul de tumefiere, care este socotit corespunzător unei reacții pozitive, variază în limite largi, de la o legislație la alta. Astfel, legislația sovietică, ca și cea din R.P.R. consideră reacții pozitive îngroșările mai mari de 7 mm, dubioase pe cele cuprinse între 4 și 7 mm și negative pe cele mai mici de 4 mm. Alte legislații admit ca reacție pozitivă o îngroșare de cel puțin 3 mm și dubioasă de 1,5—3 mm. Sensibilitatea reacției locale este, după Manninger, un factor important în judecarea reacției. Autorul consideră ca reacție pozitivă o îngroșare de cel puțin jumătate din grosimea pliului cutanat neinjectat; dacă pliul normal are o grosime de 10 mm el trebuie să atingă o grosime de cel puțin 15 mm pentru ca reacția să fie socotită pozitivă. Totuși el consideră pozitive și îngroșările mai reduse, 3 mm, de exemplu, dacă edemul constituit este dureros.

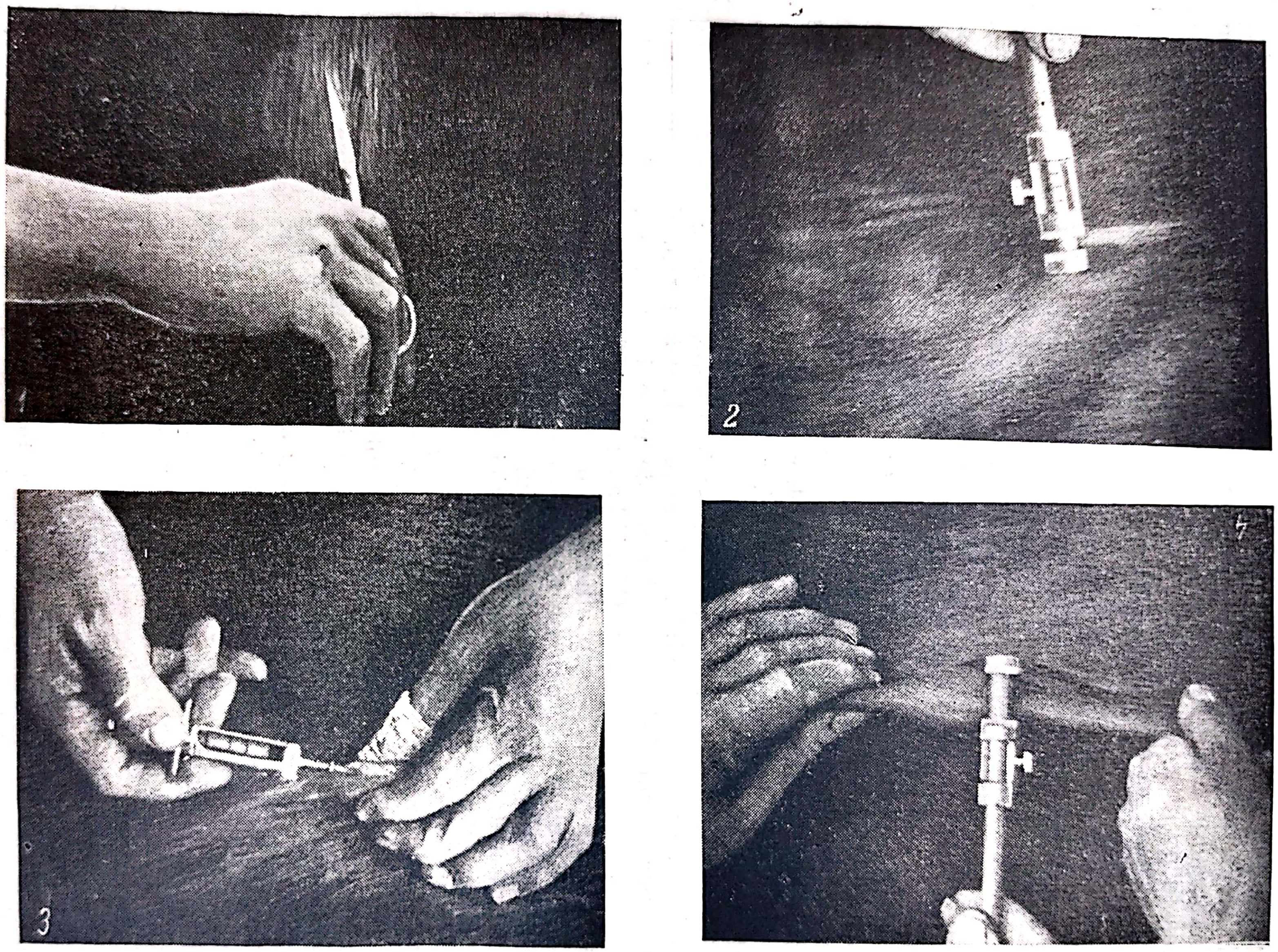


Fig. 85 — Tuberculinizarea intradermică la bovine

1 — tunderea părului; 2 — măsurarea grosimii pliului înainte de injectarea tuberculinei; 3 — injectarea tuberculinei; 4 — măsurarea pliului după constituirea reacției

Legislația franceză (1953) admite că o reacție este pozitivă cînd pielea, la locul de injecție și-a dublat grosimea (normal, de exemplu, 8 mm, iar la 24—48 de ore după injecție 16 mm sau mai mult). Reacția este socotită dubioasă cînd pielea își mărește grosimea $1^{1}/_{2}$—2 ori (8 mm normal, 12—15 mm după injecție). Sub aceste cifre, reacția este socotită negativă.

Caracterele reacției locale, după Juskoveț (1953) trebuie atent examinate, ele prezentînd o importanță deosebită pentru diagnostic. Tumefacția locală, la animalele tuberculoase, este moale, edematoasă, caldă, dureroasă. Ea nu se limitează net de țesuturile din jur. Animalele sănătoase pot face o reacție la locul de injecție a tuberculinei, dar aceasta dispare înainte de 24—36 de ore și este nedureroasă, dură și limitată net de țesuturile din jur.

Proba intradermică dublă. O serie de cercetători au constatat că se obțin rezultate mai precise de diagnostic în tuberculoza bovinelor printr-o dublă injecție intracutană, și în același loc, de tuberculină. Într-adevăr, se observă că o primă injecție poate fi urmată, după 48 de ore, la unele animale, de o reacție de mică amploare, pe baza căreia nu se poate decide dacă animalul este sau nu tuberculos: injectînd însă o nouă doză de tuberculină, în același loc și la 48 de ore după prima injecție, se constată, la animalul tuberculos, în următoarele 24 de ore, o amplificare însemnată a reacției locale. O reacție dubioasă se poate deci pozitiva prin această intervenție. Această metodă, numită „metoda dublei injecții intradermice“, a fost găsită superioară probei subcutane în urma unor ample cercetări. Într-un caz, din 835 de vite care au dat reacții negative la proba subcutană 122 au reacționat pozitiv la dubla injecție intradermică, iar 94 din aceste din urmă animale, fiind sacrificate, la autopsia lor s-au găsit leziuni de tuberculoză (Buxton și col., 1928). Tomescu și Creangă (1939) studiază, în țara noastră, comparativ, cele două metode și constată că rezultatele obținute prin dubla injecție intradermică se suprapun celor furnizate de proba subcutană. Reacția dublă intradermică are față de proba subcutană avantajul comodității de aplicație. În plus, ea nu produce tulburări clinice manifeste și se poate aplica pe vaci gestante și pe viței de 3—4 luni sau chiar mai mici. Metoda dublei injecții intradermice este superioară injecției intradermice unice de tuberculină, așa cum reiese și din cercetările făcute de Tacu și Volintir în 1949. Autorii au cercetat pe 402 bovine valoarea comparativă a probei intradermice simple și duble. Ei ajung la concluzia că proba dublă este mai precisă ca cea simplă; 15,55% dintre animalele tuberculoase nu pot fi descoperite prin metoda simplei tuberculinizări, dar sînt identificate prin dubla injecție. Autorii consideră ca reacție negativă orice îngroșare care nu depășește 5 mm; dubioasă o îngroșare cuprinsă între 5 și 7 mm și pozitive îngroșările de 7 mm sau mai mult. Tipul reacției locale, după autori, este important, dar nu decisiv, întrucît animalele care nu au edeme dureroase locale pot fi totuși tuberculoase. Bulionul glicerinat, concentrat în aceleași proporții ca și tuberculina, nu produce îngroșări mai mari de 5 mm la animalele sănătoase, dar poate provoca reacții importante la cele tuberculoase.

Tuberculina se injectează în pielea prealabil tunsă, dar nu rasă, din regiunea gîtului, care este socotită mai aptă de a reacționa la tuberculină decît pielea din alte regiuni. Iliev și colaboratorii (1955) au dovedit, în această privință, că injecțiile cu tuberculină în regiunea gîtului dau, la animalele tuberculoase, reacții mult mai puternice ca cele din regiunea spetei. În medie, grosimea faldului de piele, în cazul unei reacții pozitive, este, după autori, cu 3 mm mai mare la gît ca la spată.

Reactivitatea animalelor nu variază esențial în raport cu sezonul. În schimb, se semnalează variații în raport cu starea fiziologică a animalului, ceea ce face, ca intensitatea reacției să varieze în limite foarte largi de la o tuberculinizare la alta. Într-adevăr, se întîmplă ca animalele care au reacționat intens la o primă tuberculinizare să reacționeze dubios sau de loc la repetarea probei. În consecință, o reacție pozitivă nu poate fi anulată de o reacție negativă ulterioară.

Proba subcutană este considerată, de asemenea, ca una din cele mai precise metode de diagnostic al tuberculozei la bovidee ca și la alte animale. În comparație cu metoda intradermică, ea desensibilizează mai mult animalele ceea ce constituie un serios inconvenient în combaterea bolii. Un animal tuberculos și care a reacționat o dată la proba subcutană devine, într-adevăr, anergic pentru o perioadă mai scurtă sau mai lungă de timp.

Animalele care urmează să fie tuberculinizate pe cale subcutană trebuie să fie afebrile și igienic adăpostite. Grajdurile nu trebuie să fie nici prea călduroase, nici prea reci, pentru că și unele și altele pot influența reacția termică a animalelor. Temperatura animalelor se măsoară înainte și după injectarea tuberculinei, și anume: în ziua tuberculinizării, dar înainte de injecție se ia temperatura de patru ori, la orele 7, 12, 18 și 22. Injecția tuberculinei se face imediat după luarea ultimei temperaturi, adică la ora 10 seara, cînd se introduc subcutan 3—5 ml de tuberculină diluată 1/10 (30—50 cg de tuberculină brută) în regiunea gîtului, înaintea spetei. Reacția pozitivă se traduce prin reacții locale, focale și generale. Local, se produce o tumefacție edematoasă caldă și, fapt important în stabilirea diagnosticului, dureroasă. În jurul focarelor de tuberculoză se produce o congestie mai mult sau mai puțin intensă, ceea ce reprezintă reacția focală. Astfel, ganglionii palpabili, cu leziuni tuberculoase, își amplifică dimensiunile, se tumefiază. Tulburările generale constau din tremurături, tusă, accelerarea pulsului și respirației, și dintr-o accentuată ascensiune termică. Temperatura începe să se urce după 6—12 ore de la injecție, atinge punctul maxim după 12—25 de ore, apoi scade pentru a se urca din nou după 25—40 de ore. Curba termică prezintă astfel două vîrfuri: unul situat în prima zi și al doilea, a doua zi după tuberculinizare. Cum temperatura ne dă indicația cea mai prețioasă pentru punerea diagnosticului, ea trebuie măsurată frecvent și cu precizie. Măsurarea temperaturii începe 6—8 ore după injecția tuberculinei, adică la ora 4 sau 6 dimineața și continuă din 2 în 2 ore pînă la ora 10 seara, pentru ca a doua zi să se ia numai de trei ori, și anume la orele 6, 12 și 18.

Reacția este pozitivă și animalul este declarat tuberculos, cînd:

a) temperatura maximă, din ziua care urmează tuberculinizării, a depășit, la animalele mai mari de 6 luni, 40°C, iar la cele sub 6 luni 40,5°C;

b) temperatura a depășit normalul numai cu 1—1,4°C, dar febra a fost însoțită de reacții locale și generale puternice.

Temperatura, în ambele cazuri, trebuie să se mențină ridicată cel puțin cîteva ore.

Reacțiile pozitive concordă cu datele necropsice în 98% din cazuri. Reacția are deci un însemnat grad de specificitate. Totuși, animalele tuberculoase, în stare cașectică, nu reacționează ; la fel, scurt timp după infecție (8—51 de zile), reacția este negativă, căci animalul, deși infectat, nu este încă sensibilizat față de tuberculină. Se recomandă, pentru acest motiv, ca în grajdurile în care, la o primă tuberculinizare, s-au găsit animale tuberculoase, operația de tuberculinizare să se repete, de mai multe ori, la animalele cu reacții negative. Se pot descoperi, astfel, bovinele care la prima tuberculinizare erau în primele zile de la infecție și care deci nu erau încă în stare alergică.

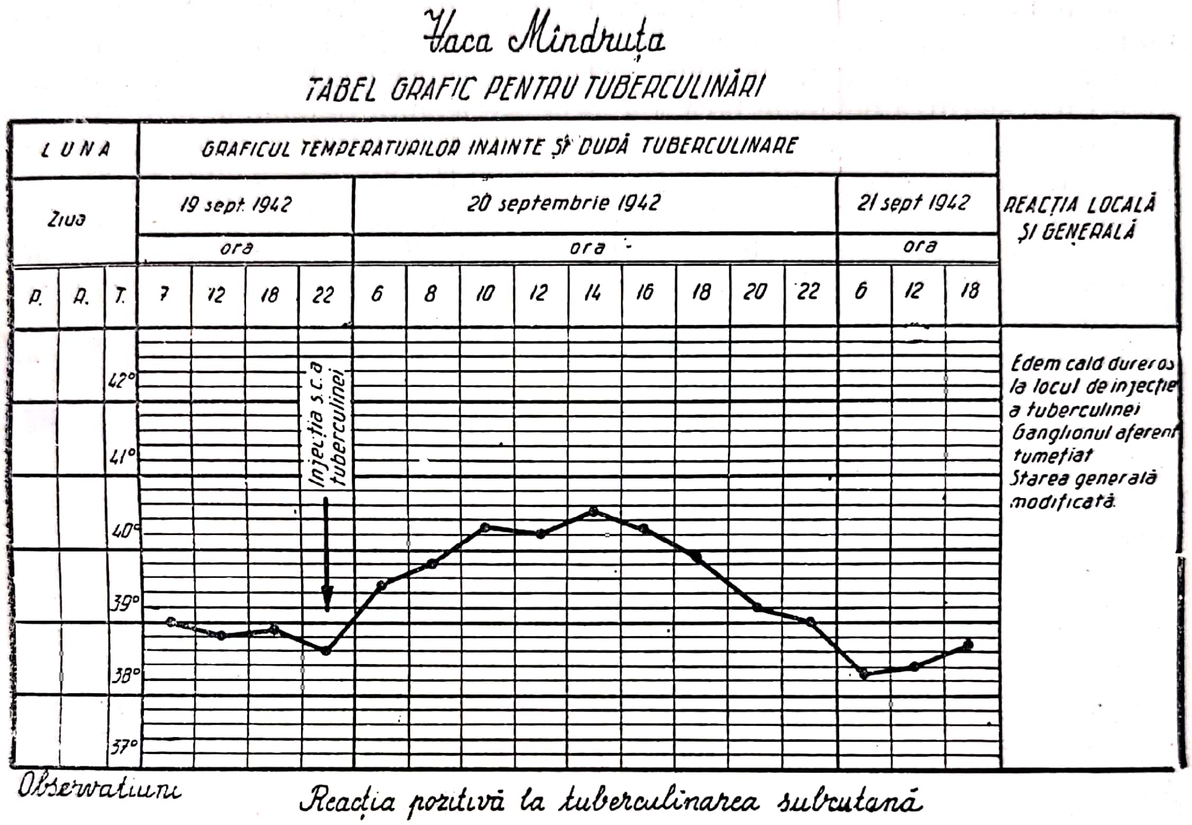


Fig. 86 — Curba termică la vacă înainte și după tuberculinizare

Specificitatea reacțiilor la tuberculină. Sensibilitatea diverselor metode de tuberculinizare, adică capacitatea lor de a distinge bovinele tuberculoase de cele neinfectate, e mare, dar nu absolută. Cercetările făcute în diverse țări (Plum, 1953, Tacu și Volintir, 1949) au arătat că unele bovine, deși au reacționat la tuberculină, nu prezintă, la autopsie, nici o leziune tuberculoasă. Asemenea reacții pozitive nespecifice sînt, în general, datorite unor stări morbide de altă natură decît tuberculoasă, cum sînt în special, actinomicoza și bruceloza. Fediușin și Uteșev (1952) observă, de asemenea că bovinele infestate cu distome şi avînd leziuni de distomatoză pot da uneori reacţii pozitive la tuberculină, deşi nu au leziuni tuberculoase. La fel, Ivanov (1952) constată că bovinele imunizate cu bacili rujetici reacţionează la tuberculină. Stenius (1932—1933), în Finlanda, găseşte o disproporţie însemnată între rezultatul tuberculinizării şi examenul de abator, în sensul că procentul de reacţii pozitive este mult mai mare ca cel al animalelor găsite cu leziuni de tuberculoză la abator. Această neconcordanţă ar fi datorită, după autor, frecvenţei tuberculozei umane şi sensibilizării bovinelor prin ingestie sau inhalaţia bacililor umani care nu produc leziuni, dar pot alergiza bovinele. De asemenea, bacilii aviari pot alergiza bovinele fără a le produce leziuni decelabile prin examen microscopic. În cazul cînd nu se găsesc leziuni la animale care au reacţionat la tuberculină, este bine, în scopul elucidării diagnosticului, să se inoculeze cobai cu triturate făcute din diverşi ganglioni limfatici. Reacţia pozitivă la tuberculină a unui bovin infectat cu bacili umani sau aviari trebuie considerată ca o reacţie nespecifică. Animalele cu leziuni cutanate de tip tuberculos pot de asemenea reacţiona la tuberculină deşi aceste leziuni nu sînt de natură tuberculoasă. Bacili acidorezistenţi saprofiţi ar putea uneori sensibiliza animalele la tuberculină.

Procentul reacţiilor nespecifice este în general mic, 3,12% în cercetările lui Volintir şi Tacu, dar el există.

O reacţie negativă la tuberculină, oricare ar fi metoda folosită, poate fi dată de următoarele categorii de animale.

1. Animalele netuberculoase şi neinfectate cu bacili acidorezistenţi.
2. Animalele recent infectate şi încă nesenzibilitate la tuberculină, care se găsesc deci în faza prealergică. Timpul necesar sensibilizării la tuberculină variază în limite largi. El este, după Vîşeleski, în medie, de 3 săptămîni; după Juşkoveţ (1948), viţeii reacţionează la tuberculină 16 zile după infecţie, iar bovinele adulte după 20—45 de zile, mai rar după 3—6 luni. În condiţii experimentale, reacţia la viţei poate deveni pozitivă chiar după 7 zile de la infecţie (Nieberle şi col.). Calmette citează cazuri rare cînd reacţia la tuberculină devine pozitivă de-abia după 2 ani de la infecţie.
3. Animalele tuberculoase în stare de anergie — forme avansate de infecţie.
4. Animalele infectate, dar desensibilizate prin tuberculinizări repetate (Juşkoveţ, 1953). Este dovedit (Iliev şi col.) că tuberculina desensibilizează animalele şi că această desensibilizare durează, în medie, 4 săptămîni. În consecinţă, practic, tuberculinizarea nu se va repeta înainte de 4 săptămîni. În cazul în care tuberculinizarea se repetă din lună în lună, desensibilizarea se produce după trei tuberculinizări.
5. Animale incomplet sau de curînd vindecate de tuberculoză.

O singură reacţie negativă, aşa cum rezultă din această enumerare, nu poate exclude tuberculoza; infecţia se exclude la un animal care în repetate rînduri a dat reacţii negative.

Reacţii dubioase sînt date de animale:

1. tuberculoase; 54% din animalele cu reacţii dubioase au avut leziuni de tuberculoză în experienţele lui Tacu şi Volintir;

2. animalele la începutul infecției și care sînt încă incomplet sensibilizate;

3. animalele tuberculoase la care starea alergică tinde spre anergie;

4. animalele infectate cu alți bacili acidorezistenți decît bacilii bovini.

Reacțiile pozitive sînt considerate ca datorite tipului bovin și deci unei infecții tuberculoase evolutive, cînd animalul face parte dintr-un grajd infectat, sau cînd a avut alte ocazii să se infecteze cu bacili bovini. În cazul cînd infecția cu bacili bovini este improbabilă, din cauză că animalul respectiv nu a fost într-un mediu infectat, se va cerceta posibilitatea infecției cu bacili umani (îngrijitori infectați) sau aviari (contactul cu păsările infectate).

Profilaxie. Profilaxia tuberculozei la bovidee, ca și la celelalte animale, se face prin eliminarea, din crescătorii a animalelor tuberculoase; deoarece, la animale, boala evoluează, de cele mai multe ori, sub formă cronică, ocultă, diagnosticul tuturor animalelor infectate constituie prima condiție a unei bune profilaxii. Bang, în Danemarca, în cursul anilor 1889—1895, a elaborat, plecînd de la aceste principii, o metodă de combatere a tuberculozei la bovidee, metodă care poartă numele autorului și care poate fi rezumată în cinci puncte.

1. Tuberculinizarea tuturor bovinelor.

2. Izolarea imediată și sacrificarea bovinelor cu reacții pozitive.

3. Înlocuirea animalelor tuberculoase sacrificate se va face cu tineret provenind din efective indemne; în cazul cînd acest lucru nu este posibil, fie din cauza absenței unor asemenea efective în proporții suficiente, fie din cauza că animalele care trebuie eliminate au o deosebită valoare zootehnică, se va recurge în acest scop, la viței provenind din vaci infectate, care însă trebuie crescuți în afară de contagiu. Creșterea în afară de contagiu se poate realiza separînd viței de mamele lor contaminate imediat după naștere.

Viței vor fi duși în grajduri situate la cel puțin 200 m depărtare de grajdul vacilor infectate sau de orice grajd cu animale adulte. Ei vor fi hrăniți, în primele 3—4 zile, cu colostru de la vaci-doice sănătoase și apoi cu lapte sigur sănătos sau, cînd acesta lipsește, cu lapte pasteurizat. Viței vor fi îngrijiți de un personal netuberculos.

Viței, cu toate aceste măsuri, vor fi urmăriți îndeaproape și, pentru eliminarea eventualilor infectați ei vor fi tuberculinizați prima dată la 20 de zile, a doua oară după înțărcare și a treia oară la 30 de zile după a doua tuberculinizare (Kiselev, 1952). Viței găsiți cu reacții pozitive vor fi scoși din grajd și sacrificați, iar grajdul riguros dezinfectat. Pereții vor fi văruiți cu lapte de var 20%.

4. Dezinfecția grajdurilor și supravegherea personalului îngrijitor spre a se evita vehicularea materialului infecțios.

5. Tuberculinizarea efectivelor indemne o dată sau de două ori pe an.

Aplicarea strictă a acestor măsuri duce la eradicarea tuberculozei. Astfel, în Danemarca, procentul de bovine tuberculoase a scăzut de la 75 — 81%, cît era între anii 1890 și 1900, la 1,2% în 1948, iar procentul de animale tuberculoase găsite în abatoare, care era, în 1937, de 26,8—41,4%, s-a redus în 1948 la 0,33—1,68% (Christiansen, 1950).

Metoda lui Bang permite eradicarea tuberculozei, dar ea nu se poate aplica în ţările în care tuberculoza bovideelor este foarte întinsă, deoarece este prea costisitoare. Din această cauză, în Germania Ostertag a preconizat o modificare a metodei lui Bang, şi anume autorul a propus să se sacrifice numai animalele cu simptome clinice, iar animalele cu reacţii pozitive, dar fără simptome clinice, să fie exploatate sub stricta supraveghere a medicilor veterinari anume instruiţi. Metoda, aşa cum observă Christiansen (1950), nu a dat rezultate şi s-a renunţat în multe ţări la ea. Ea mai este aplicată însă în ţări în care tuberculoza este încă foarte întinsă.

Metoda Bang permite eradicarea tuberculozei dintr-o crescătorie în 5 ani. Juşkoveţ (1948) a elaborat o metodă care duce la acelaşi rezultat în 3 ani. Asemenea rezultate se obţin prin tuberculinizarea repetată a efectivelor suspecte şi prin dezinfecţia severă a grajdurilor şi terenurilor infectate. Astfel, dacă o primă tuberculinizare a descoperit animale tuberculoase într-un efectiv bovin, se va proceda, de îndată, la scoaterea animalelor bolnave, iar animalele rămase sănătoase vor fi supuse la tuberculinizări repetate la următoarele intervale de timp:

1. a doua tuberculinizare la 30—90 de zile după prima;
2. a treia tuberculinizare la 90—120 de zile după a doua;
3. a patra tuberculinizare se face 30—45 de zile după a treia, în cazul cînd au mai apărut noi cazuri de boală şi după 4—6 luni cînd a treia tuberculinizare nu a mai descoperit nici un animal bolnav.

În perioadele dintre tuberculinizări, grajdurile şi padocurile vor fi frecvent şi temeinic dezinfectate, dat fiind că bacilii, răspîndiţi în grajduri sau pe sol de animalele bolnave, pot constitui o sursă de infecţie pentru animalele sănătoase. Gunoiul trebuie de asemenea dezinfectat şi aceasta se poate realiza cu var nestins (Badnjevic, 1955).

În Franţa, unde în 1954 a început o acţiune generală în vederea eradicării tuberculozei prin metoda Bang, se urmăreşte următoarea schemă de combatere: iniţial toate bovinele au fost supuse operaţiei de tuberculinizare, împărţindu-se fermele, pe baza rezultatului tuberculinizării, în două categorii:

a) indemne şi
b) contaminate.

În fermele indemne bovinele sînt supuse tuberculinizării o dată pe an timp de 4 ani şi apoi din 2 în 2 ani.

În fermele contaminate, tuberculinizările se fac din 3 în 3 luni şi toate animalele cu reacţii pozitive sînt eliminate, marcate cu litera T la ureche şi ţinute izolat pînă la sacrificare. În cazul cînd la două tuberculinizări consecutive, făcute la 3 luni interval, nu se găseşte nici un animal tuberculos, ferma intră în regimul de tuberculinizări a fermelor indemne.

În cazul cînd într-o fermă indemnă se descoperă unul sau mai multe animale infectate, ferma intră în regimul de tuberculinizări a fermelor infectate.

În concluzie, combaterea tuberculozei la bovidee se bazează în primul rînd pe eliminarea cît mai complet posibilă a animalelor infectate, deci a izvoarelor de infecţie, şi în al doilea rînd, pe dezinfecţie. Vaccinarea nu poate fi folosită decît ca metodă ajutătoare și numai în efectivele în care metoda lui Bang nu poate fi aplicată din cauza procentului ridicat de animale infectate (Manninger și Kemenes, 1955). De altfel, Oficiul Internațional de Epizootii consideră că în faza actuală nici o metodă de vaccinare nu poate fi recomandată practicii și a dat de altfel și o rezoluție în acest sens.

Tratament. Tratamentul tuberculozei animalelor domestice nu a fost încercat decît experimental și rezultatele obținute, chiar în aceste condiții, sînt nesatisfăcătoare. Badiali (1954) observă totuși că viței cărora li s-a administrat, zilnic, cîte 4 mg de hidrazidă a acidului izonicotinic, au rezistat la proba contagiului. Cu toate aceste rezultate oarecum incurajatoare, tratamentul tuberculozei la animale nu a intrat din multiple considerente economice, profilactice și nici nu poate intra în practică în momentul de față.

Tuberculoza la bivol

Arie geografică și receptivitate. Bivolul are un grad de rezistență însemnat față de bacilul tuberculozei, de aceea cazurile de infecție la această specie sînt mai rare ca la bovine. Apostoleanu (1916) a semnalat că între anii 1910 și 1915 s-au sacrificat, în abatorul București, 15 412 bivoli, din care 179 (1,27%) au prezentat leziuni tuberculoase. Tot Apostoleanu a tuberculinizat 771 de bivoli, obținînd reacții pozitive la 42 (5,3%). Cazurile cele mai frecvente au fost întîlnite la bivolițele de lapte. Cornea (1939), pentru intervalul 1932—1937, a găsit că din 69 542 de bivolițe sacrificate în abator 203 (0,29%) au avut leziuni de tuberculoză.

Tipul infectant este cel bovin.

Evoluția infecției. Tuberculoza bivolilor are un mers cronic, inaparent forma clinică a bolii fiind rar întîlnită.

Leziunile sînt, de cele mai multe ori, localizate la ganglionii traheobronhici, care sînt mult tumefiați, cît oul de gîscă sau chiar mai mari; capsula lor este îngropată și în parenchim se găsesc noduli tuberculoși. Leziunile pulmonare constau din noduli cazeificați de culoare albă și înconjurați de o capsulă fibroasă, groasă.

Tuberculoza generalizată poate fi întîlnită. Diaconu (1909) a găsit această formă la 2 bivoli din 24 de animale tuberculoase, iar Apostoleanu 1 caz din 5. Băieș și colaboratorii (1957) au identificat și descris și ei 1 caz. Leziunile la aceste animale sînt foarte întinse și cuprind tot sistemul ganglionar și toate organele.

Diagnostic. Tuberculinizarea dă rezultate în depistarea infecției. La animalele retive se poate aplica oftalmoreacția, la cele mai blînde, proba intradermică dublă.

După moarte, diagnosticul se face prin examenul anatomo-patologic și bacteriologic. Bacilii se pot găsi în frotiuri, leziunile la bivol fiind mai bogate în bacili ca cele de la bovine.

Tuberculoza la oaie

Frecvenţă. Oaia este foarte rezistentă faţă de acţiunea patogenă a bacilului tuberculozei şi de aceea infecţiile spontane, la această specie, constituie o excepţie. Cazurile apar, de regulă, la animale rău întreţinute, în criză de aclimatizare şi mult parazitate. Procentul de oi tuberculoase găsite în abator este foarte redus. În Germania, după Ostertag, acest procent, pentru anul 1918, a fost de 0,02%. Procente asemănătoare au fost găsite în alte ţări. La un abator din Anglia, s-au găsit, de exemplu, trei cazuri de tuberculoză pentru 1 096 163 de oi cercetate între anii 1920 şi 1925 (Hayhurst). În S.U.A., numărul oilor găsite cu leziuni de tuberculoză, în abatoare, a variat după cum urmează:

în	1928	1	caz	pentru	12 983 841	oi	sacrificate
	1929	1	„	„	13 768 865	„	„
	1930	5	„	„	15 306 899	„	„
	1931	3	„	„	17 300 432	„	„
	1932	4	„	„	18 659 941	„	„
	1933	2	„	„	17 283 875	„	„

În Rusia, Devel, citat de Kokuricev (1951), a examinat, în 1893, 11 738 de oi sacrificate în abator şi nu a găsit la nici una leziuni de tuberculoză. În U.R.S.S. Kokuricev (1951) găseşte însă într-o gospodărie, în care oile stăteau împreună cu bovine tuberculoase, un procent important de oi tuberculoase — 10 animale tuberculoase din 26 cercetate.

În ţara noastră, tuberculoza la oi nu a fost semnalată pînă în 1920, cînd Riegler şi Poenaru descriu două cazuri. În 1934, Ciucă publică rezultatul cercetărilor pe care le-a făcut între anii 1920 şi 1922, asupra enzootiei de tuberculoză identificată de Poenaru şi Riegler. Ciucă, în lucrarea sa, se ocupă de aspectele clinice şi anatomo-patologice ale infecţiei, precum şi de diagnosticul ei prin tuberculinizare. Cornea (1939), controlînd registrele din abator pe anii 1932—1937, găseşte că din 1392 352 de oi sacrificate numai 57 (0,004%) aveau leziuni de tuberculoză.

Tuberculoza la oaie a fost semnalată, pentru prima oară, de Barton în 1867. După această dată, alţi cercetători au identificat boala în diverse ţări ale lumii.

Tipul infectant. Oaia se infectează, de regulă, cu tipul bovin. Ciucă a izolat de la oi cinci tulpini şi toate erau de tip bovin. În general, tulpinile de bacili izolate de la oi, în Europa, sînt de tip bovin (Verge, 1945). În S.U.A., însă se izolează mult mai frecvent tipul aviar decît cel bovin (Harshfield şi col., 1937, Schöning, 1936 etc). De asemenea, două cazuri de infecţie spontană cu tipul aviar au fost semnalate de Griffith, în Anglia, în 1925.

Calea de infecţie. Infecţia pare că se face pe cale digestivă şi ea s-ar dezvolta la animalele hrănite cu lapte de vacă ecremat. Infecţia, între oi, prin contact, nu pare posibilă (Ciucă). Oile care coabitează cu bovine sau găini tuberculoase, un timp îndelungat, se pot însă infecta (Sişkina, 1955).

Evoluţia infecţiei. Animalele bolnave au de regulă apetitul redus, tuşesc şi slăbesc. Nu se constată stări febrile (Davîdov, 1930). Boala evoluează adeseori asimptomatic.

Leziunile sînt de obicei localizate la pulmon, ganglionii traheo-bronhici şi mediastinali, sub formă de complex primar complet sau incomplet (Kokuricev, 1951). Leziunile hepatice sînt rare şi atunci cînd sînt prezente constau din noduli, uneori mici, alteori foarte mari. Noduli de diverse mărimi se pot găsi şi în splină.

Ganglionii limfatici sînt hipertrofiaţi, putînd prezenta sau nu noduli tuberculoşi. Nodulii sînt înconjuraţi de o zonă fibroasă în interiorul căreia se găseşte o materie uscată, de culoare gălbuie. Leziunile pulmonare constau din noduli, în general subpleurali, de dimensiuni diferite, de aspect sarcomatos şi cu conţinut de regulă cazeificat, dar se pot găsi şi noduli necalcificaţi, însă pe cale de ramolire. Pleura viscerală este cîteodată îngroşată şi aderă la pleura parietală. Nu s-au identificat leziuni mamare. De asemenea, localizările renale, osoase şi nervoase sînt o raritate.

Histologic leziunile tuberculoase de la oaie se caracterizează prin raritatea şi chiar absenţa celulelor gigante; în leziune se găsesc limfocite epitelioide, cîteodată polinuclare şi mase de cazeificare mai mult sau mai puţin importante. Caracterul net productiv al leziunilor exprimă accentuata rezistenţă a acestei specii animale faţă de bacilul tuberculozei.

Diagnostic. În timpul vieţii, tuberculinizarea este singura metodă practică şi sigură de diagnostic. Tuberculina poate fi injectată intradermic, subcutan sau intradermopalpebral, obţinîndu-se pe toate aceste căi rezultate comparativ egale. Proba oftalmică nu dă însă rezultate. Tuberculinizarea subcutană se face cu 2 ml dintr-o tuberculină diluată 1/10 şi injectată pe faţa internă a coapsei. Reacţia pozitivă se traduce prin reacţia locală — edem dureros — şi reacţia generală febră (1,5—2,5 peste normal), anorexie, abatere. La animalele inoculate intradermic (pe faţa internă a coapsei sau în dermul urechii) sau intradermo-palpebral se produce edem local şi febră, 41—42°C.

După moarte, diagnosticul se sprijină, în special, pe examenul anatomo- şi histo-patologic, care se poate completa, la nevoie cu un examen bacteriologic — frotiuri, culturi — şi unul experimental — inoculări la cobai, iepuri, păsări. Examenul frotiurilor poate fi deseori negativ, deoarece bacilii sînt foarte rari în leziuni. Culturile şi inoculările la animalele receptive pot fi şi ele uneori negative, dat fiindcă bacilii pot dispărea din leziuni. Infecţia tuberculoasă la oaie se pare că este autosterilizabilă.

Tuberculoza la capră

Receptivitate. Infecţia este, în general, puţin răspîndită la această specie. În Germania, procentul de capre infectate este totuşi destul de ridicat, atingînd cifra de 1%. În alte ţări procentul pare a fi mult mai mic. Infecţia nu a fost semnalată în Romînia.

Capra se infectează, de cele mai multe ori, cu tipul bovin. Wvedenski (1923—1924), de exemplu, a găsit la opt capre tuberculoase de cinci ori tipul bovin şi de trei ori tipul aviar. Leziunile, la cele trei animale infectate cu tipul aviar, erau localizate la articulaţii şi la ganglionii bronhici şi mezenterici. Caprele care cohabitează cu bovine tuberculoase un timp mai îndelungat se infectează făcînd forme asimptomatice, decelabile prin reacţii alergice.

Capra pare a purta timp îndelungat bacilii aviari în organism şi Griffith relatează, în 1931, în această ordine de idei, că o capră inoculată intravenos, cu bacili aviari elimina încă bacili prin lapte după $4^1/_2$ ani de la infecţie. Rezultate similare obţine autorul şi prin inocularea bacililor aviari pe cale subcutană. Infecţia tuberculoasă, la capră, evoluează sub aceeaşi formă ca la ovine. Se produc însă, relativ frecvent, la acest animal, caverne pulmonare, leziuni care nu se întîlnesc de regulă, la oaie.

Diagnosticul în timpul vieţii se face prin metode alergice. Proba oftalmică ar da, după Mezdrin (1954), aceleaşi rezultate ca şi injecţia intradermică. Ea se face cu tuberculină nediluată care se depune pe mucoasa conjunctivală în doză de 0,15 ml. Reacţia pozitivă se traduce prin lăcrimare, precum şi prin hiperemia şi tumefierea mucoasei conjunctivale. Aceste tulburări apar la 4 ore şi dispar după 48 ore de la depunerea tuberculinei.

Tuberculina, în cazul cînd se foloseşte metoda intradermică, se inoculează în pielea de pe una din laturile gîtului sau în centrul regiunii axilare care este lipită de păr. Reacţia pozitivă se manifestă prin formarea unui edem local, dureros, care apare după 24 de ore şi dispare după 72 de ore.

Tuberculoza la cal

Frecvenţă. Calul este foarte rezistent faţă de infecţia tuberculoasă şi de aici raritatea cazurilor spontane şi caracterul leziunilor histo-patologice. Clinic, tuberculoza la cal se identifică foarte rar, de cele mai multe ori este o surpriză de autopsie sau este descoperită în abatoare. Nieberle stabileşte, de exemplu, că în perioada 1904—1924 procentul de cai tuberculoşi, în abatoarele din Germania, a fost de 0,14%. În Suedia, în perioada 1921—1942, s-a constatat că din 46 436 de cai sacrificaţi în abatoare 433 (0,09%) au prezentat leziuni tuberculoase. În marile abatoare pariziene, în perioada 1936—1947, s-au sacrificat şi examinat 415 361 de cai, din care 49 (0,0 118%) au prezentat leziuni de tuberculoză. Cifre asemănătoare au fost obţinute şi în alte ţări. În Danemarca 0,14%, Ungaria 0,14—0,25%, Elveţia 0,22—0,88%. În ţara noastră, primul caz a fost identificat de Alexandrescu (1888) iar al doilea, la un cal de 16 ani, în 1922 de Georgescu. În 1951 s-au mai găsit încă două cazuri: unul la Sibiu de către Creangă, altul la Bucureşti de Găzdaru-Adameşteanu. Un caz de orhită tuberculoasă la un armăsar a fost identificat, la Arad, de Pavel (1953).

Calea de infecţie şi tipul infectant. Infecţia se face de regulă, pe cale digestivă. Tipul bacilar frecvent întîlnit este cel bovin, dar se pot găsi şi tipurile uman şi aviar. Griffith (1936) găseşte de exemplu, că din 55 de tulpini izolate din infecţii tuberculoase ecvine, 53 au fost de tip

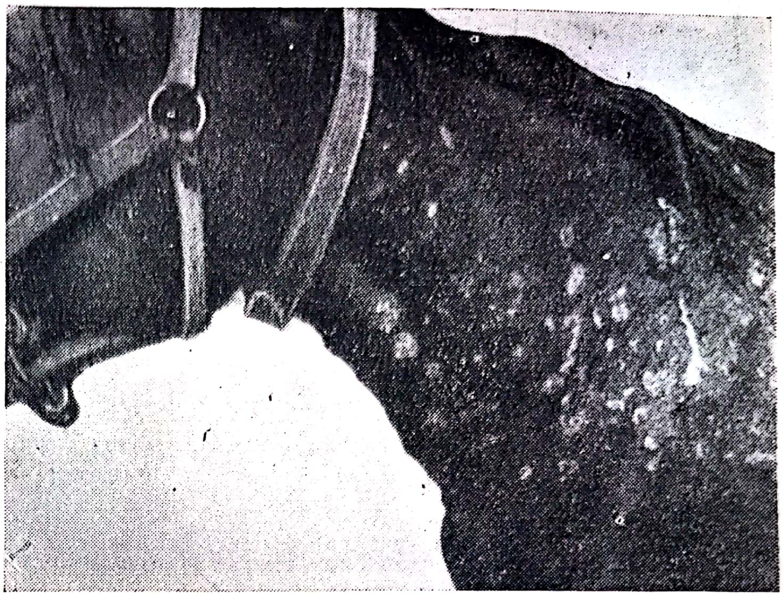


Fig. 87 — Leziuni tuberculoase cutanate la cal (după C. Adameşteanu)

bovin, 1 de tip aviar şi 1 de tip uman. Magnusson a examinat 15 tulpini, din care numai 8 au fost virulente pentru animalele de experienţă şi toate aparţineau tipului bovin. Ratz (1909) a întîlnit două cazuri de tuberculoză la cal produse de tipul aviar. Infecţii cu tipul aviar, la cal, au mai fost semnalate de Kotsis (1928), Wederlin (1935) şi alţii.

Evoluţie clinică. Tuberculoza la cal este foarte rar identificată prin examen clinic. Sub forma clinică, ea se manifestă, în general, printr-o slăbire progresivă şi nejustificată de felul hranei sau efortului. Animalele tuberculoase pot prezenta uneori necroze ale septumului nazal, care se pot confunda cu ulcerele morvoase. În utlima fază a bolii se pot constata edeme situate la membre şi furou, faţă abdominabilă inferioară etc. La unele animale tuberculoase se produce, adeseori, o hipertrofie a ganglionilor mezenterici. Palparea acestor ganglioni prin examen rectal poate servi la diagnostic. S-au descris şi leziuni cutanate care constau din tumorete plate situate în special pe cap, gît şi torace. Aceste leziuni ale pielii sînt însoţite de hipertrofia ganglionilor aferenţi. Ele nu conţin bacili, dar histologic prezintă caracterele unei leziuni tuberculoase. Tulburări digestive — diaree rebelă — pot fi deasemeni întîlnite la caii bolnavi de tuberculoză (Georgescu, 1922).

Diagnostic anatomo-patologic. Leziunile se întîlnesc frecvent în pulmon, ficat, splină, ganglionii mezenterici şi mucoasa nazală. Magnusson determină frecvenţa leziunilor pe diverse organe la un număr important de cazuri. El găseşte leziuni pe :

vertebrele cervicale	1
cord	1
pulmon	11
pleură	3
ficat	5
splină	17
intestine	2
diafragmă	3
ganglioni mezenterici	8
uter	1
piele	1
ţesutul subcutan	1

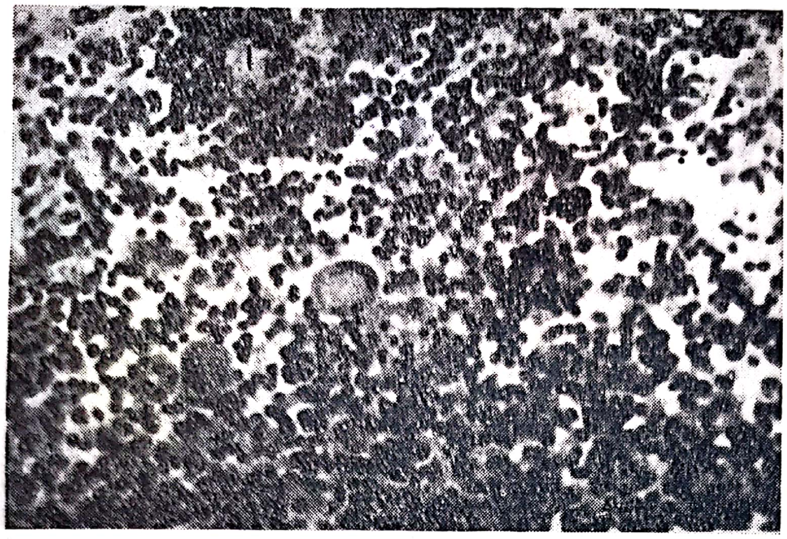


Fig. 88 — Leziune tuberculoasă la cal (după C. Adameşteanu)

Se observă celule gigante

În afară de aceste localizări au mai fost semnalate şi altele. Nieberle descrie astfel unele leziuni situate pe marile vase şi care ar putea fi atribuite acţiunii bacililor tuberculoşi. Aceste leziuni constau din mici plăci calcificate situate pe intima sau media vasului. Ele au primit diverse nume, ca: *Petrifactio aortae tuberculosa* sau *Endoaortitis tuberculosa petrificans*. Natura lor tuberculoasă se stabileşte bacteriologic — prezenţa bacililor acidorezistenţi virulenţi — şi histologic — infiltraţii limfocitare, celule gigante, calcificare. La cal se mai pot găsi formaţii nodulare papiliforme situate pe seroasele pleurală şi peritoneală, dar aceste leziuni sînt de regulă, de natură parazitară, neavînd nici o legătură cu infecţia tuberculoasă.

Leziunile la cal pot îmbrăca două aspecte, şi anume: 1) noduli miliari şi 2) noduli mari. Tuberculoza miliară se caracterizează prin prezenţa în diversele organe a numeroşi noduli, avînd mărimea seminţei de mei şi culoarea gri. Această formă rezultă dintr-o răspîndire a bacililor pe cale hematogenă.

Forma nodulară se caracterizează prin prezenţa în organe a unor rari noduli de dimensiuni variabile: de la 1 la 10 mm sau mai mult. Ei sînt de obicei numeroşi în splină şi pulmon. În pulmon ei pot conflua constituind zone întinse

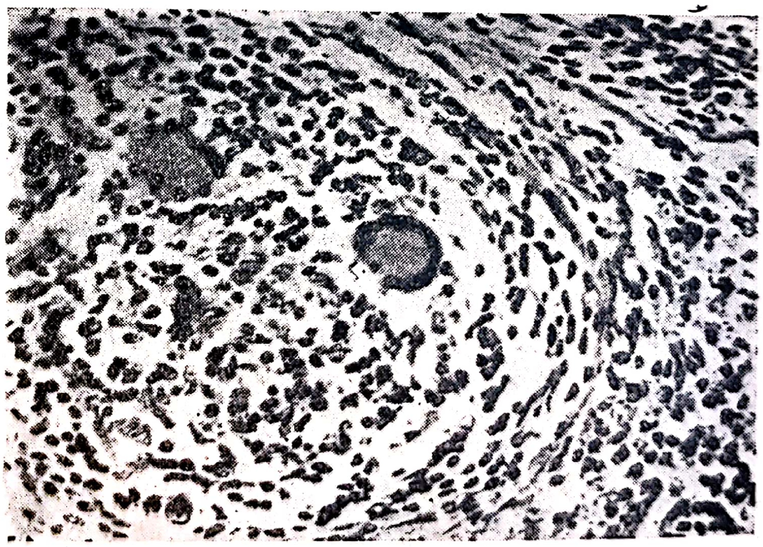


Fig. 89 — Leziune tuberculoasă la cal (după Innes)

Infecţie naturală. Secţiune prin splină. Se observă celule epiteloide şi celule gigante de pneumonie cenușie. Alteori sînt izolați și pe secțiuni se deosebesc net prin culoarea lor gri de restul țesutului din jur, care este roz. In splină ei sînt, de obicei, izolați în masa organului, dar se pot găsi și pe suprafața sa. Nodulii sînt de culoare galbenă-gri, au macroscopic aspect tumoral și înainte de 1900 au fost considerați și descriși ca sarcoame sau limfoadenoame, leziuni care în mod cert, așa cum s-a văzut mai tîrziu, erau produse de bacilii tuberculozei.

Histologic, tuberculoza calului are un caracter cronic proliferativ, mai rar necrotic și cazeificant. Leziunile se aseamănă cu cele produse de B.C.G. la cobai și iepure sau cele produse de tipul aviar în glanda mamară la vacă. Foliculul tuberculos este constituit din epitelioide și celule gigante; acestea din urmă sînt uneori foarte numeroase și foarte variate ca aspect, dimensiuni și număr de nuclei. Limfocitele sînt rare și nu constituie o coroană în jurul epitelioidelor. Procesele de necroză și cazeificare se întîlnesc rar și numai în marii noduli.

Diagnosticul alergic. Solipedele reacționează într-un procent important, 20—30% sau chiar mai mult, la tuberculină, dar de cele mai multe ori animalele cu reacții pozitive nu prezintă clinic sau anatomo-patologic o infecție tuberculoasă. Tuberculina aviară dă de regulă un procent mai mare de reacții pozitive ca tuberculina bovină. Cu toate aceste deficiențe, tuberculinizarea se aplică în practica diagnosticului tuberculozei la cal și rezultatele obținute se coroborează, în vederea precizării diagnosticului, cu datele clinice, anatomo-patologice și bacteriologice.

Metoda de tuberculinizare curent folosită, și care dă cele mai bune rezultate, este injecția intradermică, simplă sau dublă. Se folosește tuberculina diluată $^1/_4$, care se injectează în doză de 0,1 ml; pe o latură a gîtului se injectează tuberculina aviară, iar pe cealaltă bovină. Citirea se face după 48 și 72 de ore și reacția este considerată pozitivă cînd s-a produs o îngroșare locală de 3,5 mm sau mai mult. Edemul local, în cazul unei reacții pozitive, este cald și dureros. El apare 24 de ore după injecția tuberculinei, dimensiunile sale se accentuează a doua și a treia zi și apoi se resoarbe încet.

O reacție negativă la tuberculină exclude infecția bacilară, dar o reacție pozitivă nu înseamnă o infecție tuberculoasă.

Intre infecția tuberculoasă și sensibilitatea față de tuberculină nu există, așa cum deja s-a spus, decît relații nesigure, calul putînd prezenta o sensibilitate la tuberculină fără a fi tuberculos. Factorii care produc această sensibilizare nespecifică nu sînt încă cunoscuți. Ea ar putea fi atribuită acțiunii bacililor acidorezistenți apatogeni sau chiar unor bacterii neacidorezistente. Ivanov (1952) constată, de exemplu, că solipedele, injectate cu antigen rujetic, dau reacții pozitive la tuberculină.

Tuberculoza la porc

Arie geografică și frecvență. Tuberculoza la porc este inegal răspîndită pe suprafața pămîntului. In general, există o strînsă legătură între tuberculoza bovină și aviară pe de o parte și tuberculoza porcină, pe de altă parte. In consecință, în țările cu multă tuberculoză bovină, frecvența

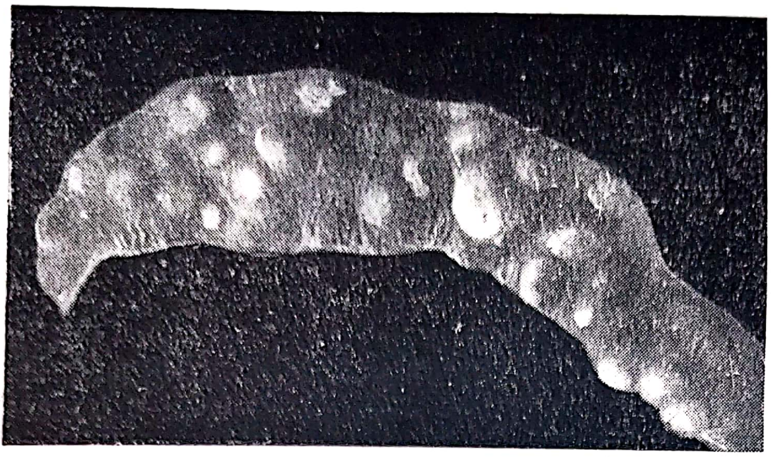


Fig. 90 — Leziuni tuberculoase în splină la porc.

tuberculozei la porc este mare (25% în Germania în perioada 1929-1938). La noi în țară ea este relativ rară. Datele statistice, publicate de Marcu în 1915, arată că din 8 104 porci sacrificați la abatorul din Brăila 27 (0,38%) aveau leziuni generalizate, iar 151 (1,8%) leziuni localizate. Cornea, pentru intervalul 1932—1937, a găsit că din 3 623 207 porci tăiați în abatoare numai 2 896 (0,08%) aveau leziuni tuberculoase. Stamatin și Cerni (1935), examinînd în intervalul 1942—1944, 1 138 de porci sacrificați în abatoarele din București și Timișoara, au găsit 33 de animale (2,98%) cu leziuni de tuberculoză.

Primele cazuri de tuberculoză porcină se pare că au fost semnalate în Romînia de Drăghiescu (1903).

Tipul infectant. Tipul bovin și tipul aviar pot infecta în egală măsură porcul. În unele țări (Anglia), procentul tipului bovin este mai ridicat decît al tipului aviar, în timp ce în altele (S.U.A.), invers, tipul aviar, este mai ades întîlnit decît cel bovin. Astfel, în Anglia, comisia din 1911, examinînd 59 de tulpini izolate de la porc, găsește că 50 erau de tip bovin, 5 de tip aviar, 3 de tip uman și 1 mixtă (bacili bovini și aviari). În S.U.A., Van Es și Martin (1925), examinînd materialul patologic de la 250 de porci tuberculoși, identifică în 185 de probe bacilul aviar, în 11 probe bacili de tip mamifer (nu au făcut distincția între tipul uman și tipul bovin), iar restul probelor, au dat rezultate incerte sau negative. O răspîndire mare a infecției cu tipul aviar este constatată și în Danemarca. Astfel, Christiansen (1913) găsește că din 118 tulpini izolate de la porc 86 erau de tip aviar, 28 de tip bovin și 4 mixte (bacili aviari și bovini); în aceeași țară Plum (1935) izolează de la 108 porci tuberculoși 100 de tulpini, toate de tip aviar. În R.P.R. s-au identificat, la porc toate cele trei tipuri; astfel, din 18 tulpini izolate și cercetate de Stamatin și Cerni (1955) 11 erau de tip bovin, 5 de tip uman și 2 de tip aviar. În plus, într-un sanatoriu de tuberculoși din București, în care porcii erau hrăniți exclusiv cu resturi de la bucătărie, Riegler și Stamatin (1935) (lucrare inedită) au constatat că majoritatea porcilor prezentau leziuni pulmonare întinse. Nu s-a determinat în aceste cazuri tipul, dar este foarte probabil că bacilii infectanți aparțineau tipului uman. Aceste date, ca și cele din literatură (Kossel și col., 1904—1905, Svanberg, 1935, Clausen, 1902, Prettner, 1912 etc.), arată că tipul uman este patogen pentru porc și ingestiile repetate și masive îl pot infecta.

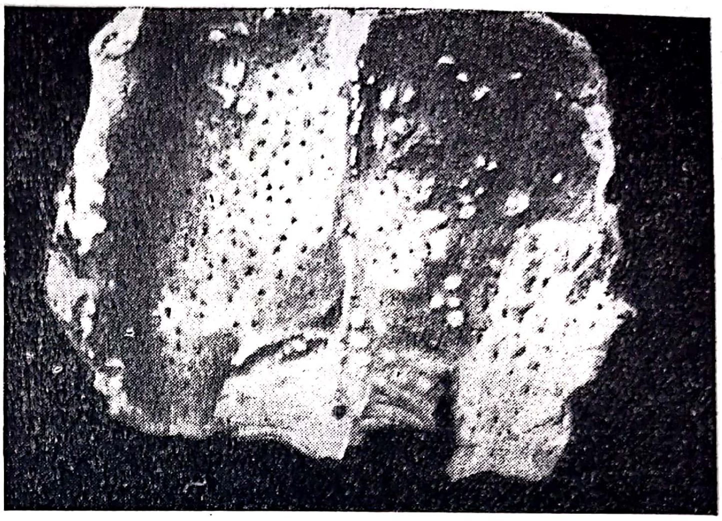


Fig. 91 — Leziuni de tuberculoză în amigdale la porc (după Chaussé)

Calea de infecție. Porcul se infectează, de regulă, pe cale digestivă, tuberculoza lui fiind de origine alimentară. Se admite că extinderea tuberculozei porcine coincide cu descoperirea separatoarelor și introducerea, în hrana porcilor, a laptelui smîntînit. În afară de lapte și alte produse pot constitui izvoare de infecție. Produsele de abator, resturile de la bucătărie etc. pot fi originea unei infecții tuberculoase a porcului. Tuberculoza de castrație a fost descrisă de numeroși cercetători (vezi Chaussé, 1910) și ea poate fi rezultatul infecției plăgii de castrație de către un operator tuberculos. În acest caz, infecția este de tip uman. Omul tuberculos poate fi deci un izvor de infecție pentru porc, ca de altfel și pentru alte animale. Bogdanov și colaboratorii (1952) relatează, de exemplu, cazuri sigure de transmitere a tuberculozei de la om la porc. Infecția pare că nu se transmite de la porcii bolnavi la cei sănătoși chiar cînd cele două categorii de animale sînt într-un permanent contact.

Evoluția infecției. Infecția evoluează rar sub formă clinică, cînd se traduce fie prin tuse, febră, slăbire, fie prin constituirea unor leziuni explorabile: ganglionare, testiculare, osoase sau mamare. Tuberculoza la porc, mai ales cînd este produsă de tipul bovin, duce în mod fatal la generalizare, neîntîlnindu-se la această specie forme regresive sau de transformare fibroasă.

Leziunile sînt frecvent localizate în ganglionii limfatici, submaxilari, faringieni și cervicali. Se pot întîlni însă leziuni în pulmon (pneumonii tuberculoase) ficat, splină, rinichi, intestine, oase etc. Frecvența localizărilor, în diverse organe, este, după Chaussé (1915), următoarea:

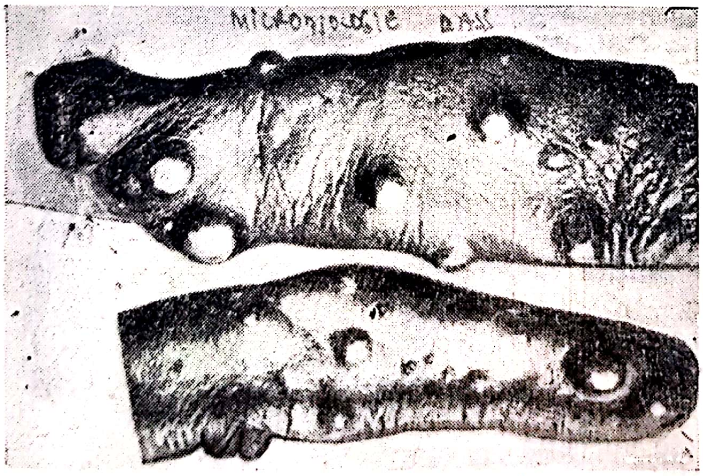


Fig. 92 — Splină de porc cu leziuni tuberculoase (după Chaussé)

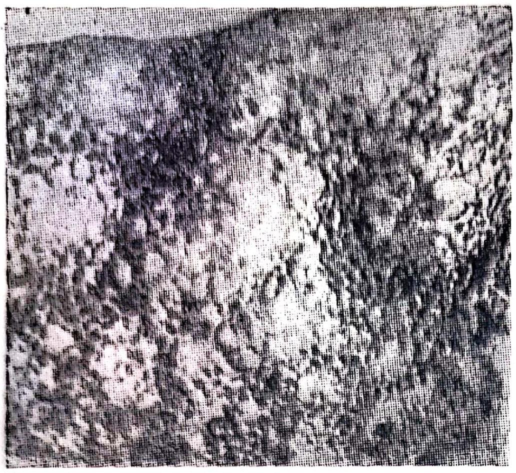


Fig. 93 — Tuberculoza ficatului la porc produsă de tipul aviar (după Nieberle)

ganglionii submaxilari	83%	pulmon	65%
„ pulmonari	60%	ficat	46%
„ mezenterici	44%	splină	31%
„ iliaci	14%	amigdale	32%
„ sublombari	13%	oase	10%
„ prepectorali	9%	pleură	4%
„ prescapulari	8%	peritoneu	4%
„ poplitei	7%	rinichi	3%
„ axilari	1%		

Leziunile produse de tipul bovin și uman sînt de tip nodular, cu tendința netă spre cazeificare și calcificare. Cele produse de tipul aviar sînt de tip proliferativ și au o slabă tendință la cazeificare și calcificare. Bacilul de tip aviar pare că se infiltrează în organism la nivelul intestinului, producînd prima leziune în ganglionii mezenterici. Într-adevăr, 90% din cazurile cu infecții cu tip aviar, examinate de Plum, prezentau localizări numai la ganglionii mezenterici. Bacilii bovini și umani pătrund de regulă la nivelul amigdalelor, producînd prima leziune în aceste organe și în ganglionii submaxilari. Din aceste leziuni primare, pe cale limfo-hematogenă, infecția se răspîndește în tot organismul, ca un proces de generalizare timpurie, legat de afectul primar. În primele 30—40 de zile după infecție, leziunile din diverse organe și în special din pulmon vor consta din noduli miliari de dimensiuni uniforme. Pe măsură ce infecția se învechește, nodulii, datorită primei invazii, cresc în volum și alături de ei apar și noduli mai mici, datoriți altor revărsări de bacili în sînge.

Diagnostic. Efectivele suspecte se tuberculinizează. Tuberculina se injectează în dermul urechii, în doză de 0,1 ml dintr-o diluție ¼ de tuberculină brută. Se folosesc, paralel, tuberculinile aviară și bovină. Reacțiile pozitive se traduc prin constituirea unei reacții inflamatorii la locul de inoculare a tuberculinei. Rotov și Lebedev (1956) afirmă că prin dubla tuberculinizare, făcută la interval de 72 de ore, se asigură o mai bună depistare a animalelor tuberculoase decît printr-o simplă tuberculinizare.

Reacția de fixare a complementului, încercată printre alții de Ivanov (1952), s-a arătat inferioară probelor alergice.

Diagnosticul, după moarte, se sprijină pe examenul anatomo-și histopatologic, pe examenul bacteriologic și cel experimental (inoculări la cobai, iepuri și eventual gă-

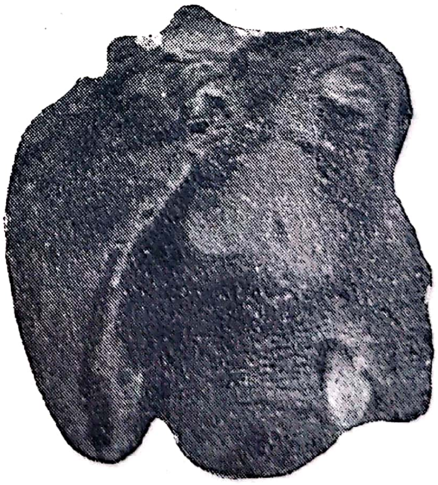


Fig. 94 — Ficat de porc cu noduli tuberculoși

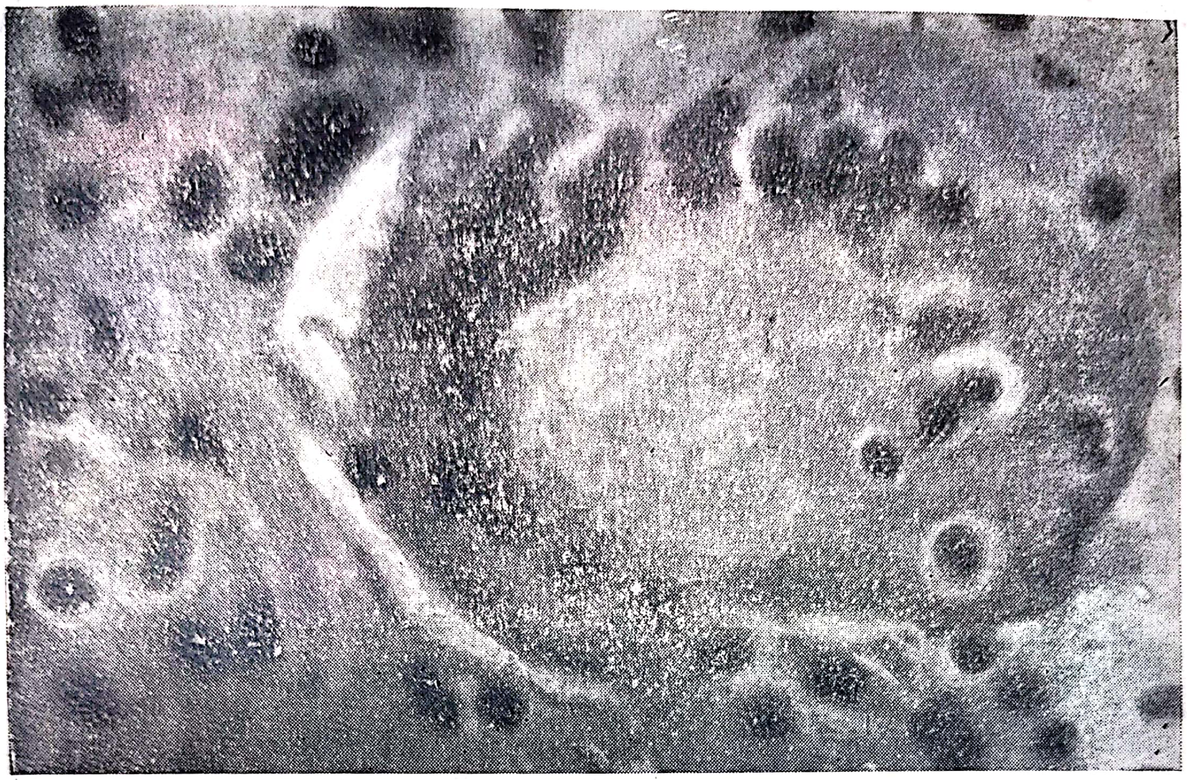


Fig. 95 — Tuberculoză la porc

Secţiune prin ganglion limfatic. Se observă celule gigante

ini). Leziunile la porc conţin, uneori, bacili destul de numeroşi, în special în cazul infecţiei cu tipul aviar; alteori sînt foarte sărace în bacili.

Profilaxie. Reducerea procentului de bovine tuberculoase duce la descreşterea numărului de porci tuberculoşi. Excluderea din alimentaţia porcilor a alimentelor infectate sau fierberea lor înainte de administrare evită infecţia. În crescătoriile infectate, tuberculinizarea, eliminarea animalelor tuberculoase şi dezinfecţia duc de regulă la stingerea focarului. Combaterea tuberculozei la porcine este uşurată de faptul că infecţia nu pare că se transmite de la un porc la altul şi probabil că nici de la porci la alte animale. Juşkoveţ a constatat, în acest sens, că porcii cu leziuni manifeste ale ganglionilor retrofaringieni nu au fost infecţioşi pentru porcii sănătoşi, deşi au stat împreună 5 luni. La fel, purceii care au supt 2 luni la scroafe cu reacţii pozitive la tuberculină nu s-au tuberculinizat.

Încercările de vaccinare cu B.C.G. au dat rezultate negative (Jundel şi col., 1935).

Tuberculoza la cîine

Arie geografică. Cîinele are un grad de rezistenţă faţă de bacilul tuberculozei şi de aceea infecţia, deşi răspîndită pe tot pămîntul, este găsită într-un procent redus de cazuri la acest animal. La noi în ţară ea este foarte rară la cîinii vagabonzi şi din sate şi mai frecventă la cîinii de apartament.

La serviciul de ecarisaj din Bucureşti, din 6 000 de cîini autopsiaţi numai unul a fost tuberculos, în timp ce din 1 000 de cîini autopsiaţi la Prosectura Facultăţii de medicină veterinară 20 au fost găsiţi purtători de leziuni tuberculoase (Mihăilescu, 1929).

Tuberculoza la cîine a fost identificată relativ recent. În 1874—1875, Chauveau şi Viseur demonstrează receptivitatea cîinelui la infecţia experimentală, iar în 1882 Brusasco identifică primul caz de infecţie naturală. În ţara noastră, primele cazuri sînt diagnosticate etiologic de Poenaru (1906). Georgescu (1911) identifică un caz de tuberculoză pleurală. Mihăilescu singur sau în colaborare a urmărit apoi mai îndeaproape această problemă.

Tipul infectant. Tipul uman este cel mai frecvent întîlnit. La noi în ţară, Mihăilescu (1929) a izolat opt tulpini de bacilul tuberculozei de la cîini tuberculoşi, iar Sîrmon (1939) zece tulpini. Sîrmon a studiat cele zece tulpini pe care le-a izolat, găsind că opt erau de tip uman, iar două se apropiau de tipul bovin. O tulpină izolată de Stamatin (lucrare inedită) de la un cîine, hrănit mult timp cu carne confiscată de la abator, aparţineau tipului bovin. Cîinele, aşa cum reiese din diversele date din literatură, este receptiv faţă de ambele tipuri de bacili ai mamiferelor, însă tipul uman este mai frecvent, pentru că pe acesta îl întîlneşte animalul mai des, el trăind în intimitatea omului. Infecţiile cu tipul aviar sînt rare (Ponomarev, 1955). Cernăianu a semnalat un asemenea caz în 1932.

Calea de infecţie. Cîinele se infectează, în mod egal, pe cale digestivă sau pe cale aeriană. Infecţia aerogenă, după Hyarre, 1940, este mai frecventă ca cea digestivă, 59% faţă de 37%. Infecţia pe cale cutanată este rară, pînă la 4%.

Evoluţia infecţiei. Boala are de cele mai multe ori o evoluţie cronică şi se manifestă prin slăbire, tristeţe, febră şi o emaciere caracteristiă a crotafiţilor. Leziunile sînt mai mult de tip proliferativ decît exudativ, şi localizate mai frecvent în ganglionii limfatici şi mai rar în pulmon, seroase, ficat, rinichi, splină şi miocard (Mihăilescu, Lupu şi Tomescu, 1938). Microscopic, leziunile se caracterizează prin raritatea celulelor gigante de tip Langhaus, prin prezenţa unui mare număr de celule epitelioide şi a unui număr relativ redus de limfocite.

Leziunile pulmonare constau din tuberculi miliari, cu sau fără pneumonie, noduli sau pneumonii cazeoase, cu sau fără caverne. Leziunile ganglionilor tracheo-bronchici, pleuritele, pericarditele, proliferative sau exudative, însoţesc, de regulă, leziunile pulmonare. Bacilul se localizează frecvent pe mucoasa intestinală; această localizare se manifestă clinic prin enterită, iar anatomo-patologic prin noduli şi ulceraţii tuberculoase, situate mai cu seamă la nivelul intestinului subţire şi al cecumului. Ganglionii aferenţi intestinului, epiploonului şi mezenterului prezintă, în asemenea cazuri, leziuni de tuberculoză. Ficatul este frecvent lezat, prezentînd leziuni nodulare de mărimi variabile. Leziuni ale seroasei peritoneale, precum şi ale splinei şi rinichilor au fost rar observate. S-au mai semnalat la cîini localizări traheale, laringiene, cerebrale, cutanate şi articulare. Osteoartropatiile observate destul de frecvent la cîini par a fi de natură tuberculoasă. S-au descris de asemenea localizări tuberculoase situate pe marile vase—aortă, de exemplu.

Diagnosticul în timpul vieţii se sprijină pe examenul clinic, tuberculinizare, examenul microscopic (Poenaru, 1906) şi cel bacteriologic al exudatelor pleurale şi peritoneale. Tuberculinizarea subcutană, cu urmărirea curbei termice, dă bune rezultate, ea permiţînd identificarea unui procent de 81% din ciinii infectaţi (Romanovski, 1931). În general însă, această metodă de diagnostic este rar folosită în practică. Probele intradermice şi oftalmice au o valoare redusă de diagnostic. După moarte, diagnosticul se face prin examen bacteriologic, histo-patologic şi eventual inoculări la animalele de experienţă (cobai).

Tuberculoza la pisică

Arie geografică. Infecţia este răspîndită pe tot pămîntul, dar procentul de pisici infectate este redus din cauza însemnatei rezistenţe a acestui animal faţă de bacilul tuberculozei.

Tipul infectant. Pisica se infectează, de regulă, cu tipul bovin şi numai rareori cu tipul uman. Din 126 de tulpini izolate de diverşi cercetători de la pisici tuberculoase, 120 au aparţinut tipului bovin şi 6 tulpini tipului uman (Verge şi col., 1942). Tipul aviar nu a fost găsit la pisică care se infectează greu cu acest tip chiar în condiţii experimentale (Bayer, 1929).

Calea de infecţie. Bacilii, după diverse date din literatură, ajung în organism pe cale digestivă în 50% din cazuri, pe cale aeriană în 40% şi pe cale cutanată în 10%.

Evoluţia infecţiei este asemănătoare în linii mari, cu a cîinelui. Există însă şi unele diferenţe. Astfel, localizările cutanate sînt mai frecvente la pisică ca la cîine ceea ce probabil este în legătură cu obiceiul pisicilor de a se linge pentru a-şi curăţi învelişul pilos ; în acest fel îşi infectează micile eroziuni cutanate. De asemenea, peritonita tuberculoasă este mai frecventă la pisică ca la ciine. Se citează de asemenea rari localizări pe sistemul nervos central (Fankhausen şi Wyler, 1952).

Diagnosticul, în timpul vieţii, se face prin examen clinic şi de laborator (frotiuri, culturi, inoculări la animale din diverse epansamente şi secreţii). Tuberculinizarea nu dă rezultate şi nu se aplică în diagnosticul tuberculozei la pisică.

Tuberculoza la păsări
(Tuberculosis avium)

Specii receptive. Dintre păsările domestice, găinile sînt cele mai receptive, iar gîştele cele mai rezistente. Frecvenţa cazurilor la principalele specii de păsări domestice, în ordine descrescîndă, este următoarea: găină, curcă, bibilică, porumbel, raţă, gîscă. Păsările semisălbatice, cum este fazanul, sînt receptive, şi s-au înregistrat la această specie numeroase epizootii. În ţara noastră, o asemenea epizootie a fost descrisă de Riegler și Stamatin (1934). Cazuri de tuberculoză s-au semnalat și la unele specii sălbatice: cioară, vrabie (Riegler, 1912), struț, papagal (Riegler, 1894) etc.

Arie geografică. Infecția la păsări a fost semnalată în toate țările lumii. Procentul de morbiditate este mai ridicat în crescătoriile exploatate intensiv decît în cele cu exploatare extensivă. În Germania, după Beller și Henninger, 10% din efectivul total de păsări era infectat în perioada 1930—1933.

Materialul infectant este reprezentat, în enorma majoritate a cazurilor, prin păsări infectate. Boala apare într-o crescătorie, în mod constant, în urma introducerii unor păsări infectate.

În fazanerii, boala poate fi introdusă prin găinile folosite la clocitul ouălor, așa cum s-a întîmplat în epizootia studiată de Riegler și Stamatin (1934).

În afară de această sursă principală, reprezentată prin pasărea bolnavă de tuberculoză, bacilii mai pot fi introduși, în crescătoriile indemne, prin păsări sălbatice care au consumat cadavre tuberculoase și care elimină bacili prin materiile fecale. Diversele alimente — coji de ouă pisate, furaje murdărite cu materii virulente etc. — pot constitui de asemenea surse de infecție. Ouăle provenind de la găini tuberculoase pot conține bacili (Scepilov, 1954) și puii ieșiți din asemenea ouă pot prezenta, după ecloziune, leziuni de tuberculoză.

Solul pe care au fost păsări tuberculoase conservă bacilul un timp îndelungat, pînă la 724 de zile (Posohin, citat de Prohorov, 1955) și el poate de asemenea constitui o sursă de infecție.

Tipul infectant. Tipul constant întîlnit este cel aviar. Tipul uman a fost găsit la papagal. Papagalul este sensibil și față de tipul bovin. Păsările domestice, în condiții naturale, nu fac forme evolutive de boală decît în cazul infecției cu tipul aviar.

În ce privește patogenitatea tipului uman, față de păsări în general și găină în special, s-a afirmat de mulți observatori că ar putea produce o infecție clinică. Aceste afirmații se sprijină de cele mai multe ori pe date epidemiologice și nu pe o cercetare bacteriologică a tulpinilor încriminate. Astfel, de multe ori, tuberculizarea găinilor într-o gospodărie în care există un om tuberculos este considerată ca fiind de origine umană, ceea ce desigur nu corespunde în mod obligatoriu realității. Se poate foarte bine ca găinile să fie infectate cu tipul aviar și cele două infecții — la om și la păsări — să evolueze paralel, fără a avea nici o legătură cauzală între ele. Infecția spontană cu tipul uman sau cu tipul bovin, la păsări, constituie o foarte rară excepție, și din punct de vedere al practicii epizootologice trebuie să considerăm că omul și bovinele nu pot constitui o sursă de infecție pentru păsări.

Date epizootologice. Infecția se caracterizează, epizootologic, printr-o însemnată contagiozitate. Este de-ajuns ca într-un coteț sau într-o curte să pătrundă o singură pasăre tuberculoasă, pentru ca destul de repede infecția să cuprindă întregul efectiv. Difuzibilitatea bolii este înlesnită de faptul că în general păsările tuberculoase elimină prin materiile fecale cantități enorme de bacili, care îmbibă locul pe unde umblă păsările sănătoase.

Acestea din urmă ciupesc și ingeră o dată cu diverse particule alimentare și foarte numeroși bacili. Viteza de difuziune a bolii este condiționată de gradul de aglomerare a păsărilor în adăposturi și padocuri, de starea de igienă etc. Cu cît numărul păsărilor pe unitatea de suprafață este mai mare și cu cît măsurile de curățenie se aplică mai defectuos, cu atît ocaziile pe care le au păsările sănătoase de a ingera bacilii sînt mai numeroase și deci viteza de difuzine a bolii se accentuează.

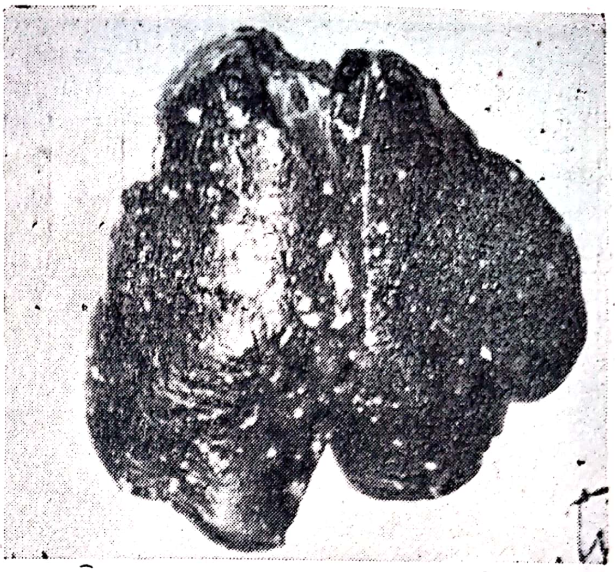


Fig. 96 — Tuberculoză la găină
Infecție naturală. Ficat

În ceea ce privește sensibilitatea la tuberculoză a diverselor rase din cadrul speciilor de păsări domestice, nu pare să existe diferențe esențiale între ele. Toate rasele sînt egal de receptive. De asemenea nu există diferențe nici în ceea ce privește vîrsta, dar, în general, de altfel ca și la mamifere, tuberculoza este mai frecvent întîlnită la păsările mai mari de 1 an decît la cele pînă la 1 an. Aceste diferențe nu par a fi în legătură cu o receptivitate specială a păsărilor mai în vîrstă. Se admite că acestea din urmă prezintă mai frecvent leziuni tuberculoase, pentru că au avut de mai multe ori ocazia de a ingera bacili ca cele mai tinere.

Calea de infecție. Bacilul pătrunde, de regulă, în organism pe cale digestivă și numai rareori pe cale aeriană sau cutanată. Transmiterea congenitală, așa cum s-a spus mai sus, este posibilă, dar pare totuși foarte rară.

Evoluția infecției. Tuberculoza spontană la găini evoluează, constant, cronic și sfîrșește totdeauna cu moartea. Durata perioadei de incubație variază în limite foarte largi, de la cîteva săptămîni la cîteva luni. După apariția simptomelor clinice, starea animalului devine din ce în ce mai rea și după cîteva săptămîni moare, cu leziuni întinse de tuberculoză. Moartea poate surveni uneori accidental și este datorită rupturii ficatului, care, din cauza leziunilor tuberculoase, este foarte friabil. În faza ultimă a bolii, găinile tuberculoase sînt cașectice, au penele zbîrlite, iar creasta și bărbiile palide, anemice. Fecalele sînt dia-

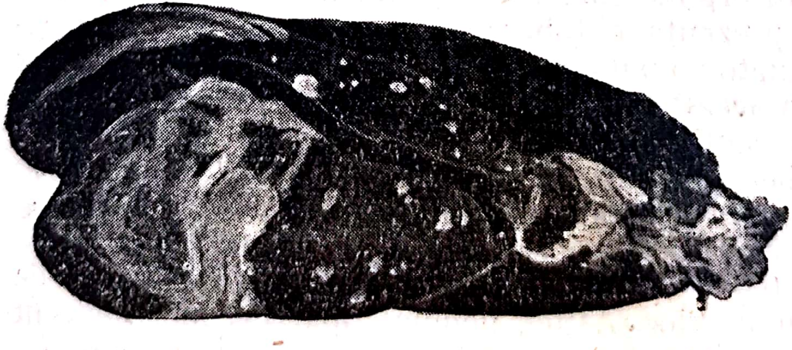


Fig. 97 — Leziuni tuberculoase la găină (după Bușniță, 1936)
Infecție experimentală

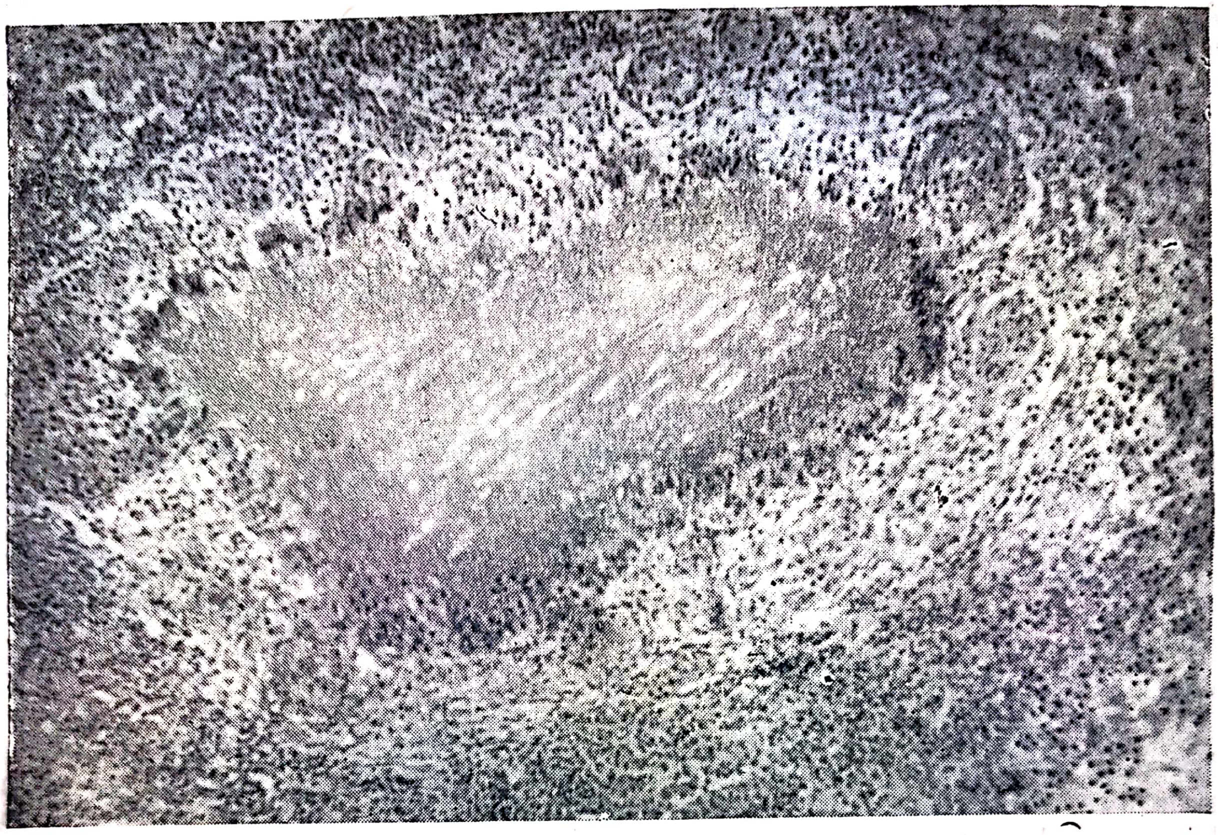


Fig. 98 — Tuberculoză la pasăre

Nodul în splină. Aspect microscopic

reice, și conțin, în mod obișnuit, numeroși bacili acidorezistenți. Bacilemia este prezentă în unele faze ale bolii, ceea ce reiese atît din aspectul anatomo-patologic, (prezența constantă a leziunilor în măduva osoasă), cît și din datele experimentale. Tomescu (1936), printre alții, a arătat astfel că se pot izola bacili atît din sîngele găinilor cît și din al porumbeilor tuberculoși (Tomescu și Firu, 1933). Răspîndirea frecventă a bacililor pe cale sanguină reiese și din datele publicate de Pusztai (1956), după care bacilii pot fi prezenți în organe care nu prezintă leziuni tuberculoase.

Leziuni. Păsările pot prezenta o tuberculoză septicemică, caracterizată din punct de vedere anatomo-patologic printr-o congestie a organelor interne; ficatul și splina, în această formă de tuberculoză, sînt mult mărite în volum, congestionate și conțin numeroși bacili și noduli microscopici. De cele mai multe ori, tuberculoza la păsări evoluează însă cronic și în acest caz leziunile sînt reprezentate prin noduli vizibili cu ochii liberi, ei avînd dimensiuni ce variază de la mărimea unui bob de mei pînă la cea a unei alune. Nodulul tuberculos la păsări are un aspect deosebit față de cel format în țesuturile mamiferelor. Astfel, nodulul tipic, cel mai frecvent întîlnit în organele păsărilor tuberculoase, prezintă o zonă centrală amorfă, necrotică, în care se găsesc bacili și resturi celulare. Această zonă centrală necrotică, este mărginită de o coroană de celule gigante, care nu sînt bine limitate între ele, și care pătrund în zona necrotică constituind niște insule ascuțite. Celula gigantă conține mai mulți nuclei; nucleii au puțină cromatină. În jurul celulelor gigante este prezentă o coroană de epitelioide, care la rîndul lor sînt limitate la exterior, de un strat de celule stelate, de origine conjunctivă. Leziunile tuberculoase ale păsărilor nu se calcifică decît excepțional.

Diversele organe și țesuturi nu sînt afectate, într-o măsură egală, și de aceea și frecvența leziunilor variază de la un organ la altul sau de la un țesut la altul. Tacu (1957), examinînd 107 cadavre de găini tuberculoase, a găsit că frecvența leziunilor, în diferite țesuturi și organe, era următoarea :

ficat	95,32%	articulații	3,73%
splină	85,04%	rinichi	1,86%
oase	84,11%	pipotă	1,86%
intestine	80,37%	ovare	1,86%
pulmoni	75,70%	timus	1,86%
pericard	0,93%	tiroidă	1,86%
seroasa abdominală	7,47%	miocard	0,93%
mucoasa laringiană	0,93%	piele și țesutul conjunctiv subcutan	0,93%
sacii aerieni	0,93%		

Alți cercetători au găsit procente asemănătoare. În general, se admite că leziunile tubului digestiv și ale glandelor anexe și în primul rînd ale ficatului sînt cele mai des întîlnite. Urmează apoi, în ordinea frecvenței, splina. Pulmonul însă, spre deosebire de ceea ce se observă la mamifere, este relativ mai rar sediul unor leziuni tuberculoase.

Tacu nu a găsit leziuni în vezica biliară, pancreas, esofag, testicule, oviduct, trahee, mușchi, mucoasele conjunctivală, bucală și faringiană. Acest fapt nu exclude posibilitatea localizării bacililor și în aceste țesuturi și organe. Vezica biliară prezintă, și după alte date, rareori leziuni tuberculoase, deși bacilii se elimină frecvent și în mare cantitate prin bilă. Bacilii pare că nu se pot fixa pe mucoasa vezicală. În schimb, localizările în pancreas, mușchi, mucoasele căilor digestive anterioare, esofag, gușă, au fost frecvent semnalate atît la găini, cît și la alte specii de păsări, mai cu seamă la porumbel. Firu, (1933) găsește la porumbel localizări pancreatice în 20,2% din cazuri, pe mucoasa gușei în 14,52%, în cloacă în 21,28% etc. Leziuni testiculare, ovariene și pe oviduct, precum și în glandele cu secreție internă au fost de asemenea semnalate de numeroși observatori.

Anatomo-patologic și chiar clinic se pot distinge, la păsări două forme de tuberculoză, și anume : o formă internă, în care leziunile sînt situate în organele interne și o formă externă, în care, de regulă, pe lîngă leziuni în organele interne sînt prezente și modificări tuberculoase situate extern, și anume pe piele, articulații, mucoase, țesut conjunctiv subcutan etc. Localizările externe sînt mai frecvente la unele specii : porumbel (Firu, 1933), papagal, ca la altele, găină de exemplu. De cele mai multe ori leziunile externe constau din nodozități, de mărimi variabile (pînă la mărimea unei nuci), cu conținut cazeos și de culoare albă-gălbuie, situate

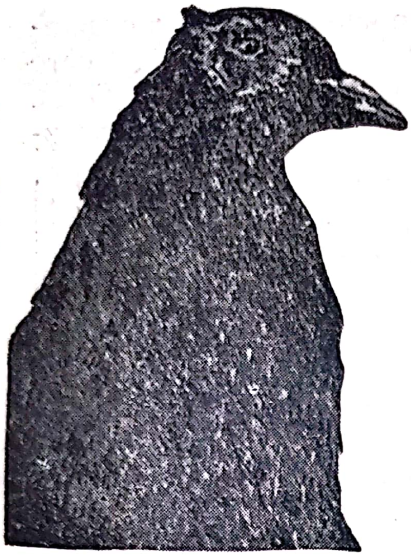


Fig. 99 — Leziuni tuberculoase oculare şi perioculare la porumbel (după Firu)

în diverse regiuni ale corpului. Leziunile externe se pot prezenta uneori şi sub forma de noduli duri, cornoşi. Nodulii cazeoşi se pot ulcera, eliminîndu-se astfel numeroşi bacili.

La păsări, dat fiind că sistemul limfatic prezintă numeroase anastomoze, nu există, se pare, o tuberculoză locală şi alta generalizată. Destul de frecvent, tuberculoza la păsări este generalizată şi chiar atunci cînd leziunile sînt limitate la un organ, bacilii pot fi prezenţi şi în alte organe, ca o consecinţă a difuziunilor pe cale sanguină (Pusztai, 1956).

Diagnosticul, în timpul vieţii, se sprijină pe examenul clinic, bacteriologic şi mai ales pe tuberculinizare.

Examenul clinic nu are valoare de diagnostic decît în ultima fază a bolii, cînd animalele prezintă modificări caracteristice ale stării generale, precum şi leziuni palpabile în diverse organe: hipertrofie nodulară a ficatului, noduli în intestin etc. In faza iniţială a bolii, cînd animalul deşi infectat nu prezintă modificări clinic perceptibile, nu putem recurge la examenul clinic pentru a identifica păsările bolnave. Modificările sîngelui nu prezintă, de asemenea, o prea mare valoare de diagonstic, aşa cum reiese din datele comunicate de diverşi cercetători. Grimal (1938), în infecţia experimentală de tip septicemic, cu evoluţie de 3 săptămîni, găseşte următoarele caracteristici ale tabloului sanguin:

1. limfocitoza în prima săptămînă;
2. mononucleoza în a doua săptămînă;
3. polinucleoza cu dispariţia eozinofilelor cu granule în a treia săptămînă.

Modificarea sanguină care, după autor, pare caracteristică infecţiei tuberculoase a păsărilor, o constituie scăderea continuă a raportului L/M (limfocite/monocite).

In infecţiile naturale, unii autori (Buckhard, 1912) semnalează o însemnată leucocitoză — 100 000—200 000 pe 1 mm^3. Aceste diverse modificări nu par a fi patognomonice şi nu pot da indicaţii precise cu privire la diagnosticul tuberculozei.

Examenul bacteriologic al materiilor fecale este de o valoare apreciabilă în formele avansate de boală, cînd bacilii se elimină masiv pe această cale, ei putînd fi puşi în evidenţă chiar în frotiul direct. Se poate recurge, în acest scop, la nevoie, şi la o metodă de îmbogăţire — metoda flotaţiei, de exemplu.

Tuberculinizarea se face cu tuberculina aviară, diluată 50%. Produsul se injectează intradermic, în una din bărbii (Van Es, 1913). Inoculările subcutane nu dau rezultate. Inoculările intradermice în alte regiuni decît bărbiile dau rezultate mai puţin nete (Girginoff, 1955).

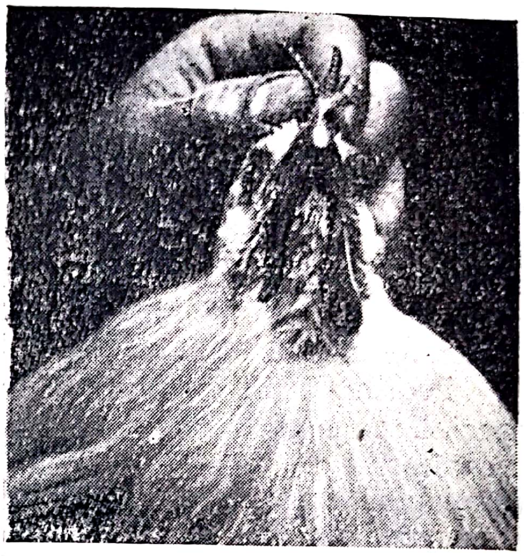


Fig. 100 — Reacție pozitivă la tuberculină (după **Beach** și col.)
Bărbița stîngă, în care s-a injectat tuberculina, este mult tumefiată în raport cu bărbița dreaptă

Reacția pozitivă se traduce prin tumefacția bărbiei injectate. Citirea reacției se face după 24—48 de ore de injecție. Valoarea de diagnostic a tuberculinizării este relativ redusă. Adeseori, păsări fără leziuni tuberculoase dau reacții pozitive și păsări tuberculoase nu reacționează. Jușkoveț și Tuzova (1954) constată, de exemplu, că procentul păsărilor tuberculoase care nu reacționează la tuberculină variază de la 6,7 la 52,2%. Absența reacției la păsările tuberculoase se datorește uneori stărilor anergice, consecință a epuizării organismului, alteori faptului că pasărea deși infectată nu s-a alergisat. Astfel, păsările cașectice, în ultima fază a bolii, nu reacționează de regulă, la tuberculină, dar există și păsări în perfectă stare de întreținere cu reacții negative deși au leziuni tuberculoase mai mult sau mai puțin întinse. Dubla injecție intradermică pare a mări valoarea de diagnostic a tuberculinei, așa cum reiese din cercetările făcute întîi de Rotov (1954), apoi de Fișbein și Goroșnikova (1954). Prin această metodă se poate depista un procent mai mare de păsări bolnave ca printr-o singură tuberculinizare. În cercetările lui Girginoff (1955), acest procent a crescut la a doua tuberculinizare cu 32,3%. Stoenescu și colaboratorii (1955) au putut mări procentul păsărilor infectate și depistate practicînd trei tuberculinizări succesive, respectiv la interval de 48 de ore și 72 de ore după prima. Totuși, chiar în acest fel, nu se pot identifica toate păsările bolnave. Repetarea tuberculinizărilor la intervale scurte de timp, 10—15 zile, desensibilizează animalele (Girginoff, 1955).

La păsările lipsite de bărbie (porumbei, fazani, palmipede) tuberculinizarea se poate face în pleoapa inferioară (Riegler și Stamatin, 1934, Firu, 1934, Șcepilov, 1955). În urma unei asemenea inoculări, la păsările tuberculoase, se produce frecvent la locul de inoculare o îngroșare a mucoasei, perceptibilă prin palpare. Valoarea de diagnostic a metodei este totuși destul de relativă.

Reacția de seroaglutinare dă indicații asupra unei infecții tuberculoase. Ea pare a fi mai precoce și chiar mai precisă ca tuberculinizarea. Prohorov și colaboratorii (1955) au folosit cu bune rezultate hemaglutinarea rapidă pe lamă. Prin acest procedeu, autorii descoperă un procent mai mare (65,7%) de păsări tuberculoase ca prin tuberculinizarea dublă (59,8%). Rezultatele hemaglutinării sînt condiționate, în special de felul antigenului folosit. Pentru a obține bune rezultate, este necesar un antigen stabil, și care la controalele făcute în laborator să se dovedească a fi specific.

Diagnosticul după moarte se bazează pe examenul bacteriologic, anatomo- și histo-patologic. Bacilii sînt foarte numeroși și pot fi găsiți cu ușurință în frotiuri. Absența în frotiuri este o indicație serioasă că leziunile din care s-au făcut frotiurile nu sînt tuberculoase. În special, leziunile găsite în aspergiloză pot fi confundate macroscopic și la un prim examen cu cele tuberculoase. În acest caz, un frotiu făcut din noduli și colorat după Ziehl-Neelsen ne dovedește lesne natura netuberculoasă a leziunii. În leziunile tuberculoase se găsesc constant bacili acidorezistenți și absența lor din frotiuri permite cu o mare siguranță, eliminarea diagnosticului de tuberculoză.

Profilaxia în cazul apariției bolii într-o crescătorie se sprijină, în special, pe depistarea și izolarea păsărilor bolnave și pe dezinfecție. În crescătoriile în care numărul păsărilor infectate este mare, peste 10%, se recomandă înlocuirea întregului efectiv, deoarece măsurile de izolare și dezinfecție nu dau în aceste condiții rezultate pozitive. Încercările de imunizare a găinilor cu B.C.G. (Doyle, 1930) sau cu suspensii inactivate de bacili aviari (Petroff și col., 1932) au dat rezultate negative. Combaterea tuberculozei aviare este una din problemele nerezolvate ale medicinei veterinare.

Tuberculoza la animalele sălbatice

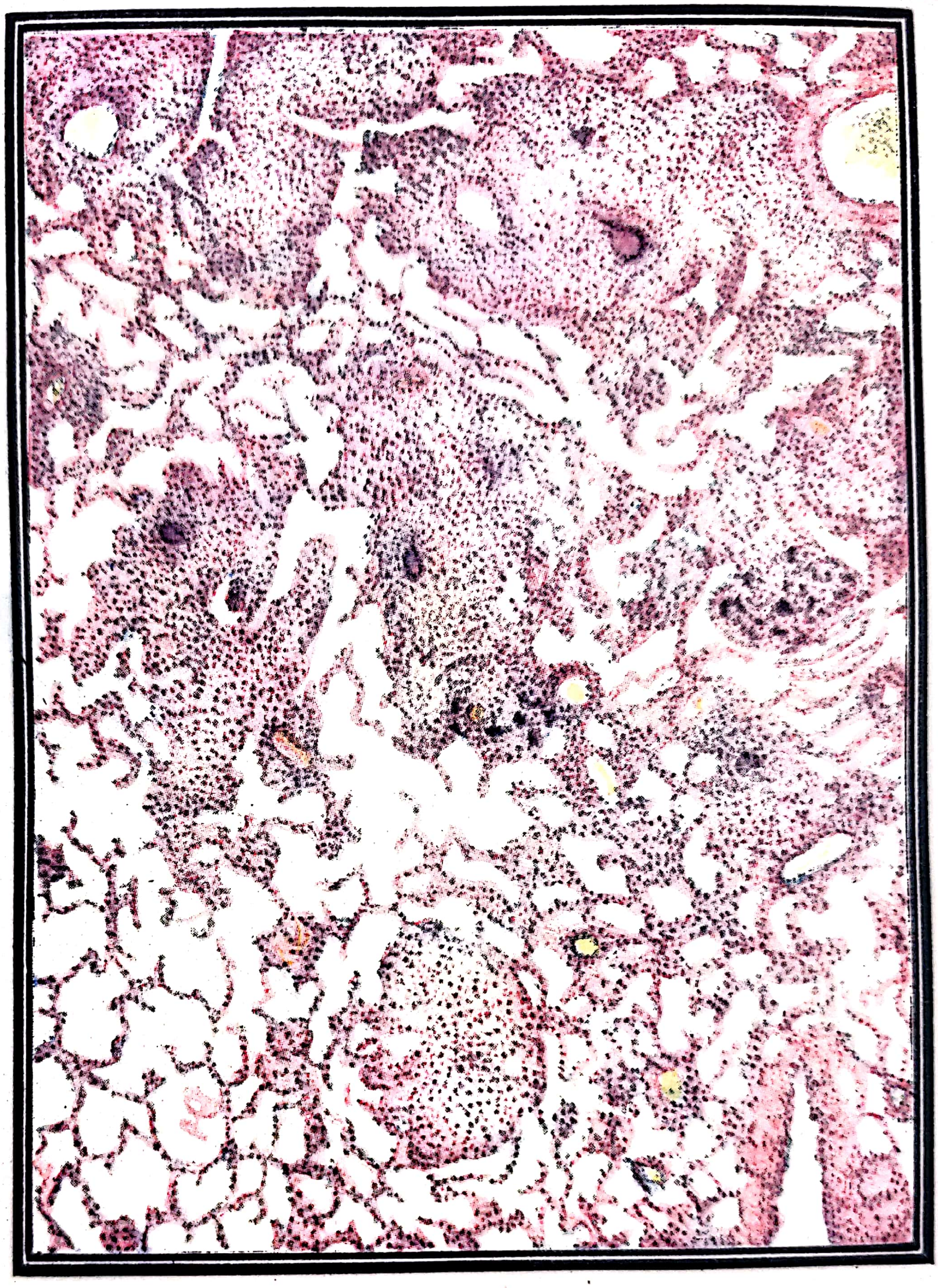
Maimuțele, dintre mamifere, sînt cele mai sensibile față de infecția tuberculoasă. În condiții experimentale, ele se dovedesc mai sensibile și decît cobaiul. Tuberculoza spontană se întîlnește foarte frecvent la maimuțele ținute în captivitate, în apartamente sau parcuri zoologice. Infecția se realizează, de cele mai multe ori, cu tipul uman. Urbain (1938) constată că din 30 de tulpini izolate și identificate 25 aparțin tipului uman, 4 tipului bovin și 1 tipului aviar. Dintre maimuțele infectate și autopsiate de acest cercetător, un procent important, 60%, prezenta leziuni de tuberculoză generalizată, 25% leziuni situate pe aparatul digestiv și 15% diverse alte localizări — renale, osoase, ganglionare, testiculare, meningiene etc. În țara noastră Tomescu (1942) a diagnosticat și descris cîteva cazuri de tuberculoză la maimuță, insistînd asupra modificărilor anatomice și histologice

Infecția tuberculoasă a maimuțelor este de regulă de origine umană și se observă în parcurile în care ele au contact frecvent cu publicul. O dată un individ infectat, boala nu întîrzie să se răspîndească de la el la ceilalți congeneri. Ea are deci în cadrul speciei caracter contagios.

Frecvența tuberculozei este de asemenea destul de mare la mamiferele din grupa ungulatelor: familiile *Elephantidae, Bovideae* (bovine, antilopine, bubaline), *Cervideae* (cerbi) și familia *Tapiridae* (tapirul). Tipul infectant variază. La bovidee și cervidee se izolează exclusiv tipul bovin, iar la elefanți adeseori tipul uman. Leziunile sînt situate, de obicei, în cavitatea toracică și peritoneală.

La cangur, infecții tuberculoase cu bacili de tip aviar au fost descrise de Lucas (1925), Griffith (1928) și Stableforth (1929).

Șoarecii și șobolanii sălbatici se pot infecta în condiții naturale cu toate cele trei tipuri. Tipul aviar poate fi întîlnit la șoarecii și șobolanii din



Aspectul histologic al leziunilor tuberculoase
în pulmonul de maimuță
(preparat: *Tomescu*; desen: *Cerni*)

adăposturile cu găini tuberculoase. Şoarecii sălbatici, aşa cum a arătat Wells, pot prezenta o tuberculoză produsă de un tip socotit aparte, şi anume tipul murin.

Diagnosticul, în timpul vieţii, la aceste diverse animale se poate face prin metode alergice, care dau rezultate bune la toate mamiferele în afară de maimuţă, la care reacţiile la tuberculină sînt inconstante. În schimb, la maimuţă reacţia de fixare a complementului dă rezultate pozitive. Probele alergice dau de asemenea rezultate la şoareci şi şobolani.

Tuberculoza la animalele de laborator

Iepurii şi mai ales cobaii nu se infectează decît excepţional de rar, în condiţii naturale, cu bacilul tuberculozei. Remlinger (1923), urmărind experimental problema, ajunge la concluzia că transmiterea infecţiei de la cobaii tuberculoşi cu leziuni deschise la congenerii sănătoşi nu se face decît foarte rar, chiar în cazul unei coabitări stricte. Chiar puii născuţi vii din cobăiţe tuberculoase şi care sug şi stau în aceeaşi cuşcă cu mama lor nu se infectează, de regulă, de tuberculoză. Cu toate că transmiterea tuberculozei prin contact constituie o excepţie la cobai, se vor lua măsuri de izolare a animalelor tuberculoase în laboratoarele în care se lucrează cu tuberculoză. Cauzele rezistenţei la infecţia spontană a acestor rozătoare care, în condiţii experimentale, sînt destul de sensibile, chiar în cazul administrării bacililor per os, sînt necunoscute.

Iepurii, deşi sînt mai rezistenţi decît cobaii la infecţia experimentală, se tuberculizează spontan mai cu uşurinţă şi cazuri au fost semnalate de diverşi cercetători, în special la animalele tinere. Tipul infectant poate fi bovin sau aviar. Cernăianu şi colaboratorii (1932) au diagnosticat o infecţie spontană cu tipul aviar.

Leziunile tuberculoase la iepurii infectaţi spontan sînt situate, fie în ganglionii mezenterici, ficat, splină, rinichi (infecţie digestivă), fie în cazul infecţiei pe căile respiratorii, în pulmoni (focare cazeoase sau noduli miliari) cu sau fără leziuni în alte organe.

Şoarecii şi şobolanii albi sînt foarte rezistenţi la infecţia tuberculoasă experimentală sau naturală şi la ei nu s-au semnalat cazuri de infecţie spontană cu bacilul tuberculozei.

Tuberculoza la poikiloterme

Leziuni asemănătoare celor produse de bacilii tuberculozei la homeoterme au fost întîlnite şi la unele specii poikiloterme, ca diverse specii de peşti, broaşte şi şerpi. În aceste leziuni, unii cercetători au găsit bacili acidorezistenţi pe care i-au putut cultiva pe medii de cultură. Aceşti bacili au fost consideraţi specii distincte şi au fost numiţi :

Mycobacterium piscium : germen izolat de Dubard şi Bataillon de la crapi cu leziuni tuberculoase.

Mycobacterium marinum izolat de Aronson de la peştii de mare cu leziuni tuberculoase.

Mycobacterium ranae izolat de la broaşte cu leziuni tuberculoase.

Mycobacterium thamnopheos izolat de la şerpi cu leziuni tuberculoase.[1]

Aceşti diverşi germeni, spre deosebire de cele trei tipuri de bacili ai homeotermelor, nu se cultivă la temperatura de 37°C, ci numai la temperatura de 25°C, sau mai puţin şi nu sînt patogeni pentru animalele homeoterme de laborator. Se dezvoltă pe medii cu ou şi dau colonii vizibile după o incubaţie de 3 săptămîni la 25°C (Besse, 1952).

Relaţiile dintre aceşti bacili acidorezistenţi şi leziunile nodulare care se găsesc, sub piele şi în organe, la peşti (în special la cei din acvarii), nu sînt bine stabilite şi nu se poate preciza în ce măsură germenii intervin în formarea acestor leziuni. Se poate ca prezenţa bacililor acidorezistenţi în leziunile nodulare să fie întîmplătoare, dat fiindcă asemenea bacili se pot găsi şi izola din ţesuturile normale ale unor poikiloterme.

În plus, reproducerea bolii la poikiloterme cu bacili izolaţi din asemenea leziuni nu s-a putut realiza.

BIBLIOGRAFIE

ALEXANDRESCU D. — Tuberculoza la cal. *Bul. Soc. de Med. Vet.*, 1888—1889, nr. 2, p. 60.

ALEXANDRESCU D. — Cunoştinţele actuale asupra vaccinaţiunii antituberculoase şi rezultatul încercărilor de vaccinaţiune în ţară, după metoda Behring. *Arhiva veterinară*, 1909, 6, p. 192.

ALMASSY K. şi col. — Titrarea tuberculinei prin metode serologice. *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, 1953, 3, p. 313.

ANANIADES B. şi PAPANARGHYROU N. — Cercetări asupra existenţei tuberculozei de origine bovină la om, la Salonic. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 117, p. 314.

ANGHELOV ST. şi KUJUMGIEV I. — Asupra standardizării metodei de aglutinare în serodiagnosticul tuberculozei la noi. *Bul. Inst. Microbiol. Acad. Bulgare*, 1951, 2, 29.

APOSTOLEANU E. — Contribuţiuni la studiul tuberculozei la bivol. *Arhiva veterinară*, 1916, 13, p. 188.

BABEŞ V. şi PROCA G. — Cercetări asupra acţiunii bacilului tuberculozei şi a substanţelor antagoniste. *Ann. Inst. de Path. şi Bacter.*, vol. 6 din 1894—1895, p. 53.

BABEŞ V. — Asociaţiunile bacteriene ale bacilului tuberculozei cu microbi hemoragici. *Ann. Inst. de Path. şi Bacter.*, vol. 6 din 1894—1895, p. 176.

BADESCU ST. — Intradermoreacţia ca mijloc de diagnostic al tuberculozei bovideelor, în comparaţie cu injecţia subcutanată de tuberculină. *Arhiva veterinară*, 1909, 86, p. 85.

BADIALI L. — Hidrazida acidului izonicotinic în tuberculoza bovină. *Vet. Italiana*. 1954, 5, p. 7.

---

[1] Voiculescu (1939) a izolat de la trei vipere trei tulpini de bacili acidorezistenţi. Două din aceste vipere aveau leziuni nodulare (una noduli miliari, multipli în peretele intestinal, a doua un nodul hepatic de mărimea unui bob de mazăre), a treia însă nu avea nici o leziune

BADNJEVIC B. — Dezinfecţia cu var nestins a gunoiului de grajd infectat cu bacilii tuberculozei. *Off. Int. Epizooties,* 1955, 44, p. 404.

BAIEŞ I. şi COL. — Consideraţii asupra unui caz de tuberculoză generalizată la bivol. Pr. Zoot. şi vet. 1957. Nr. 7 p. 47.

BAISDEN A. I. şi col. — Influenţa vechimii asupra activităţii tuberculinei de mamifer întrebuinţate pe cale intradermică. *Am. J. Vet. Res.*, 1952, 13, p. 62.

BALŢEANU I., TOMA A. şi MARDARE T. — Vaccinarea antituberculoasă a cobaiului şi iepurelui prin vaccinul B.C.G. introdus prin înţepături cutanate în serii repetate. *Arch. Roum. Path. Exper.*, 1943, 13, p. 149.

BANG D. — Tuberculoza aviară şi tuberculoza mamiferelor. *Zbl. f. Bakt. O.*, 1908. 43 p. 462.

BAYER ST. — Cercetări asupra tuberculozei aviare experimentale la pisică. *Arhiva Veterinară,* 1929, 21, p. 23.

BEGNESCU P. — Bacili acidorezistenţi la Pelecus cultratus (sabiţă). *Arhiva veterinară* 1941, 33, nr. 3—6, p. 53.

BERNARD E. şi KREIS B. — Microculturi pe lame ale bacilului Koch din sîngele uman. *Ann. Inst. Pasteur,* 1949, 77, p. 653.

BESSE P. — Tuberculoza peştilor. *Bull. Francais de Pisciculture,* 1952, nr. 164, p. 99.

BESREDKA A. — Cultură de bacili tuberculoşi în gălbenuş de ou. *Ann Inst. Pasteur.* 1921, 35, p. 421.

BOCHALLI R. — Die Geschichte der Schwindsucht, Leipzig, 1940.

BOGDANOV A. P. şi col. — Despre unele probleme din epizootologia tuberculozei vitelor cornute mari şi a porcilor. *Veterinaria,* 1952, nr. 8, p. 39.

BOQUET A. şi NÈGRE L. — Contribuţie la studiul infecţiei tuberculoase la micile rozătoare. *Ann. Inst. Pasteur,* 1921, 35, p. 142.

BOQUET A. — Bacilul lui Koch, publicat în *Encyclopedie Médico-Chirurgicale,* Paris 1935.

BOQUET A., SANDOR G. şi SCHAEFER W. — Încercări de sensibilizare a cobaiului prin constituanţii organici ai bacilului Koch. *Ann. Inst. Pasteur,* 1937, 59, p. 577.

BOQUET A. — Cercetări asupra virulenţei bacilului turberculos de tip uman şi de tip bovin inoculat la iepure pe cale meningială. *Ann. Inst. Pasteur,* 1938, 61, p. 479.

BRĂTIANU S. şi ANGHELESCU V. — Tuberculoza pulmonară experimentală la arici (Eurinaceus europaeus). *Arch. Roum de Path. Exper.,* 1933, 6, p. 233.

BRENNAN şi DALLING — Proba unică de tuberculinare intradermică. *Off. Inst. des Epizooties,* 1950, 34, p. 307.

BRETEY J. — Experienţe de infectare cu un singur bacil tuberculos izolat cu micromanipulatorul. *Ann Inst. Pasteur,* 1944, 70, p. 357.

BURNET ET. — Cînd şi cum apare sensibilitatea la tuberculină. *Ann. Inst. Pasteur* 1915, 29, p. 274.

BUŞNIŢĂ V. — Cercetări experimentale despre acţiunea bacililor tuberculozei de tip uman, bovin şi aviar la găini. *Teză la Facultatea de Medicină Veterinară,* Bucureşti, 1936.

BUXTON B. şi MACNALTY S. — Proba tuberculinei intradermică la bovine. *Medical Research Council,* Londra, 1928. Raport special nr. 122.

CALMETTE A. şi GUÉRIN C. — *C. R. Acad. Sci. Paris,* 1909, 149, p. 191.

CALMETTE A., BOQUET A. şi NÈGRE L. — Contribuţie la studiul bacilului tuberculos biliat. *Ann. Inst. Pasteur*, 1921, 35, p. 561.

CALMETTE A., NÈGRE L. şi BOQUET A. — Incercări de vaccinare a iepurelui şi a cobaiului contra infecţiei tuberculoase. *Ann. Inst. Pasteur*, 1922, 36, p. 625.

CALMETTE A. şi GUERIN C. — Vaccinarea bovideelor contra tuberculozei şi noua metodă de profilaxie a turberculozei bovine. *Ann. Inst. Pasteur*, 1924, 38. p. 371.

CALMETTE A., BOQUET A. şi NÈGRE L. — Incercări de vaccinare contra infecţiei tuberculoase pe cale bucală la animalele mici de laborator. *Ann. Inst. Pasteur*, 1924, 38, p. 399.

CALMETTE A., GUÉRIN C., NÈGRE L. şi BOQUET A. — Premuniţia noilor născuţi contra tuberculozei prin vaccinul B.C.G. (1921 la 1926). *Ann. Inst. Pasteur*, 1926— 40, p. 89.

CALMETTE A., VALTIS J. şi LACOMME M. — Infecţia transplacentară prin ultravirusul tuberculos şi ereditatea tuberculoasă. *Ann. Inst. Pasteur*, 1928, 42, p. 1149.

CALMETTE A. — L'infection bacillaire et la tuberculose. *Masson*, Paris, 1928, ediţia a III-a.

CALMETTE A. — Cu privire la relaţiile între alergia tuberculinică şi imunitatea în tuberculoză. *Ann. Inst. Pasteur*, 1932, 49, p. 297.

CANETTI G. — L'allérgie tuberculeuse chez l'homme. *Flammarion*, Paris, 1946.

CANTACUZINO I. — Incercări de vaccinare a noilor născuţi contra tuberculozei cu B.C.G. în Romînia. *Ann. Inst. Pasteur*, 1927, 41, p. 274.

CANTACUZINO I. şi col. — — Trei ani de vaccinări antituberculoase în Romînia prin B.C.G. *Arch. Roum. Path. Exper.*, 1929, 2, p. 131.

CERNĂIANU C., POPOVICI I. şi JITARCIUC N. — Tuberculoza aviară spontană la iepure. *D. t. Wochenschrift*. 1932, 40, p. 767.

CHAUSSÉ P. — Despre conţinutul produselor patologice în bacili tuberculoşi. *Réc. Méd. Vét.*, 1910, 87, p. 297 şi 645.

CHAUSSÉ P. — Tuberculoza de castraţie la porc. *Réc. Méd. Vét.*, 1910, 87, p. 645.

CHAUSSÉ P. — Tuberculoza porcului. Epidemiologie, patogenie şi evoluţia comparată. *Ann. Inst Pasteur*, 1915, 29, p. 556 şi 633.

CHAUVEAU — Aplicarea cunoaşterei condiţiilor de infecţie la studiul contagiunii ftiziei pulmonare. *Bull. Acad. Méd.*, 1868, 33, p. 1007, *Réc. Méd. Vét.*, 1869, p. 202.

CHRISTIANSEN J. M. — Lupta contra tuberculozei bovine pe baza experienţelor făcute în Danemarca. *Rev. Path. Comparée*, 1950, 50, p. 77.

CIUCĂ AL. — O enzootie de tuberculoză ovină în Romînia. Valoarea diagnostică a reacţiilor la tuberculină la oaie. Caracterele anatomo-patologice ale leziunilor. Hommage à la mémoire du professeur Jean Cantacuzène, 1934, p. 185.

CLAUSEN — Contribuţie la posibilitatea transmiterii tuberculozei de la om la porc. *Z. f. Fleisch und Milchhyg*, 1902, 12, p. 115.

CONSTANTINESCU G. K. — Cercetări asupra frecvenţei bacilului tuberculos în laptele din comerţ din Bucureşti. *Arhiva veterinară*, 1913, 10, p. 1.

CORNEA I. — Studiu statistic asupra tuberculozei la animalele de abator pe bază de tuberculinizare. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1930

DAVIDOV A. M. — *Vestrick sovremmen. Veter.*, 1930, 7—8, p. 196.

DEUTSCH I. — Asupra unui caz de tuberculoză aviară la om. *Med. Klinik*, 1925, p. 1884.

DIMBOVICEANU A. — Contribuţii la studiul compoziţiei chimice a bacilului tuberculos. *Arch. Roum. de Path. Exper.*, 1937, 10, p. 401.

DIACONU GH. — Note asupra patologiei bivolului. *Arhiva veterinară*, 1925, 12, p. 61.

DOIG I. A. şi col. — Investigaţii clinice şi de laborator asupra tuberculinei purificate, derivat proteic (P.P.D.) şi tuberculina B.G. (O.T.). *Brit. Med. Journal*, 1938, 1, p. 992.

DORSET M — *J. Amer. vet. med. Ass.*, 1934, 84, p. 439.

DRAGHIESCU D. — Tuberculoza şi tuberculina la porci, *Bul. Soc. Méd. Vét.*, 1903, p. 94.

DROOGLEEVER J. F. — Complicaţii după vaccinarea cu B.C.G. *Tijdschr. v. Gennesk.*, 1953, 97, p. 2780.

DUBOS R. şi MIDDLEBROOK D. — *Amer. Rev. Tub.*, 1948, 58, p. 698.

EASTWOOD şi GRIFFITH — *Rep. to the local Governement Board — New Series*, nr. 91, London, 1924

EASTWOOD şi GRIFFITH — *The Lancet* 1914, Mai, p. 1968.

EISSNER G. — *Mh. prakt. Tierheilk.*, 1950, 2, p. 208.

ELEK P. şi col. — Producţia de anticorpi la bovinele tuberculoase în cursul reacţiei la tuberculină. *Acta. Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, 1954, 4 p. 349.

ELEK P. şi col. — Cercetări comparative privind folosirea probelor serologice în diagnosticul tuberculozei. Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae 1954, 4, 275.

EMELIANOVA A. N. — Despre diagnosticul rapid al tuberculozei prin inoculare intracerebrală la şoarece. *Problemî tuberculoza.* 1952, nr. 2.

ES VAN şi MARTIN M. A. — O anchetă asupra cauzelor creşterii procentului de tuberculoză la porc. *Coll. of. agric. Univ. of Nebraska Agric. Exp. Station Research., Bull.*, 1925, februarie, p. 78.

FANKHAUSER R. şi WYLER R. — Tuberculoza sistemului nervos central la carnivore. *Schweizer Arh. Tierheilk.*, 1952, 94, p. 547.

FELDMAN W. H. — Tuberculoza generalizată la porc datorită unui bacil de tip aviar. *J. Am. V. M. Ass.*, 1938, 40, p. 681.

FENNER F. — *Amer.,Rev. Tuber.*, 1951, 64, p. 353.

FIRU D. — Contribuţiuni la diagnosticul clinic, anatomo-patologic şi bacteriologic al tuberculozei columbare. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1934.

FIŞBEIN V. I. şi GOROŞNIKOVA V. G. — Tuberculinizarea dublă şi însemnătatea ei pentru asanarea rapidă a crescătoriilor de păsări tuberculoase. *Veterinaria*, 1954, nr. 3, p. 52.

FONTES A. — *Memorius de Instituto Oswaldo Cruz*, 1910, 2, nr. 1, p. 141.

GASTINEL P. şi BROCARD H. — Despre comportarea cobailor tuberculoşi desensibilizaţi la tuberculină faţă de fenomenul lui Koch. *Ann. Inst. Pasteur*. 1946, 72, p. 429.

GEORGESCU V. — Un caz de tuberculoză la cal. *Arhiva veterinară*, 1922, 16, p. 40.

GEORGESCU V. şi col. — Dezvoltarea comparativă a culturilor de bacili tuberculoşi pe diferite medii nutritive. *Studii si cercetări de inframicrobiologie*, 1954, 5, p. 477.

GERNEZ-RIEUX C. şi TACQUET A. — Reacţia de hemaglutinare practicată comparativ cu antigenul tip Middlebrook şi Dubos şi cu tuberculină precipitată. *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, 78, p. 550.

GERNEZ-RIEUX C. și TACQUET A. — Fenomenul de hemoliză condiționată în tuberculoză. *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 81, p. 149

GIRGINOFF G. — Cercetări asupra tuberculinizării găinilor. *Naukii trudove (Fac. med. Vet. Sofia)* 1955, 4, p. 213.

GOLDENBERG I. și col. — Proprietățile patogene ale culturii bacilului tuberculozei izolat de la șoareci. *Veterinaria,* 1952, nr. 11, p. 20.

GÖRTLER V. și WEBER E. — Tuberculoza bovină drept cauză a tuberculozei umane. *Wissenschaftliche Zeitschrift der F. Schiller Universität.* Jena, *seria matematici și științe naturale,* Heft., 2, 3, 1954—1955, p. 255.

GÖTZE R. — *D. tierartz. Wschr.*, 1951, 58, p. 33 și p. 113.

GRÄUB și col. — *Schw. Zschr. allg. Path. u. Bakt.*, 1949, 12, p. 459

GREEN H. H. — *The Vet. Jour.*, 1946, p. 102 și *Proc. Royal Soc. Med.*, 1951, 44, p. 1045.

GRIFFITH A. S. — Tuberculoza la oaie. J. comp. Path., 1925, 28, p. 157.

GRIFFITH A. S. — Tuberculoza de origine bovină la om. *Vet. Record,* 1927, 7, p. 1143.

GRIFFITH A. S. — Tuberculoză la un animal sălbatic în captivitate. *J. of. Hyg.*, 1928 28, p. 198.

GRIFFITH A. S. — Infecția cronică a ugerului de capră cu bacilii tuberculozei aviare *J. comp. Path.*, 1931, 44, p. 144.

GRIFFITH A. S. — Tuberculoza bovină la om. *Proc. Soc. Med. London,* 1938, 31, p. 1208.

GRIMAL R. — Variațiile formulei leucocitare și raportul limfo-monocitar în tuberculoza acută a găinii. *C. R. Soc. Biol.,* 1938, 128, p. 655.

GUÉRIN C., RICHART C. și BOISSIÈRE M. — Incercare de profilaxie a tuberculozei bovine cu B.C.G. într-o exploatare rurală infectată. *Ann. Inst. Pasteur,* 1927, 41, p. 233.

GUERITÉE V. N. — Asupra determinării tipului de bacili tuberculoși izolați din cazuri de tuberculoză pulmonară în Romînia. *Arch. Roum. Path. Exp.*, 1944, 13, p. 495.

GURALNICK L. și GLASER STANLEY — Mortalitatea tuberculoasă în Statele Unite în 1948. *Pub. Health. Rep.,* 1950, 65, p. 468—493.

GURLT — Lehrbuch der pathologischen Anatomie, 1831.

GUTTMANN — *Baltische Wschr. Dorpat,* 1890, nr. 51.

GROLIER A. și VOICULESCU TH. — Cercetări privind prezența bacilului tuberculozei în lapte și derivatele sale. *Ann. Inst. Pasteur,* 1939, 61, p. 145.

HAFFNER — *Z. f. Fleisch u. Milchygiene,* 1907—1908, p. 7.

HAEBLER T. VON MURRAY — Microscopia fluorescentă în descoperirea bacililor tuberculozei și leprei. *S. Afric. Med. Journal*, 1954, 28, p. 45.

HALLBERG V. — O nouă metodă pentru colorarea bacililor tuberculozei.*Acta, Med. Scandinavica,* 1941, 12, p. 108, 1946, supliment p. 180.

HARSHFIELD și col. — *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1937, 91, p. 323.

HAUDUROY P. — Inventaire et description des baciles paratuberculeux. *Masson,* Paris, 1946.

HAUDUROY P. și ROSSET W. — Șase ani de experimentare asupra infecției hamsterului prin B.C.G.*Rev. d'Immunologie,* 1955, 19, p. 308.

HAUDUROY P. și LORETAN M. R. — Reacții cito-chimice. Metode noi de studiul virulenței micobacteriilor. *Rev. Path. Gén. et Comparée,* 1953, 53, p. 169.

HOLLAND P. D. J. — Imunitate şi hipersensibilitate. *Irish, J. Med. Sci.*, 1953, nr. 333, p. 345.

HEDVALL E. — Tuberculoza bovină la om. *Acta Med. Scandinav. Supplementura* 135. *Mercators Tryckeri. Helsingfors*, 1942, 239.

HÜBSCHMANN P. — Pathologische Anatomie der Lungentuberkulose. Berlin 1923.

JONES R. O. şi col. — *Am. Rev. Tuberc.* 1949, 60, p. 514.

JENSEN K. A. — *Zbl. f. Bakt. O.*, 1932, 125, p. 222.

JENSEN K. A. şi col. — Frecvenţa infecţiilor bovine în tuberculoza din Danemarca. *Acta, tbc. Scand.*, 1940, 14, p. 125.

ILIEV T. şi col. — Cercetări privind unele momente esenţiale în reacţia cu tuberculină pe cale intradermică la bovine. *Naukii trudove (Fac. Med. Vet.* Sofia) 1955, 4, p. 191

IONESCU-MIHAEŞTI C., DIMBOVICEANU A., ISTRATI M. şi WISNER B. — Studiul imunochimic şi proprietăţile biologice ale componenţilor bacililor tuberculoşi.

Nota. I. Apariţia de substanţe nedializabile (proteine şi polizaharizi) în filtratele culturilor de bacili tuberculoşi, *Acad. R.P.R., Buletin ştiinţific, seria ştiinţe medicale,* 1950, t. II, nr. 3, p. 975.

Nota *II.* Izolarea tuberculo-proteinelor din filtratele de culturi în mediu sintetic. Purificarea şi determinarea compoziţiei lor organice, t. II. nr. 3, p. 195.

Nota III, t. III, nr. 5, p. I.

Nota IV. Cercetări asupra proprietăţilor biologice ale tuberculo-proteinei. Acţiunea chimiotactică faţă de leucocite, t. II, nr. 7, p. 843.

IONESCU-MIHAEŞTI C. şi col. — Studiul imunochimic şi proprietăţile biologice ale componentelor bacililor tuberculoşi. Contribuţii la patogenia tuberculozei. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1952, 3, nr. 1—2, p. 105 şi nr. 3—4, p. 133.

IONESCU-MIHAEŞTI C., BARBER, DIMBOVICEANU A. şi WISNER B. — Contribuţii la patogenia tuberculozei. Studiul imunochimic şi proprietăţile imunologice ale componentelor bacililor tuberculoşi. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1953, 4, nr. 1—2, p. 171.

IONESCU-MIHAEŞTI C. şi col. — Cercetări asupra bacilului tuberculozei murine. *Academia R.P.R., Buletin ştiinţific, secţia ştiinţe medicale,* 1956, 8, p. 199.

IONESCU-MIHAEŞTI C. şi col. — Contribuţii la studiul patogenezei şi imunităţii în tuberculoză. *Rev. Sci. médicales,* 1956, 1, p. 55.

IVANOV M. M. — Cercetarea specificităţii de tip a antigenilor bac. tuberculozei. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnah preparatov,* 1952, 3, p. 293.

IVANOV M. M. — Ridicarea sensibilităţii pielii la cobai şi iepuri faţă de tuberculoză după introducerea repetată de bacilii rujetului. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnah preparatov,* 1952, 3, p. 293.

JUNDELL I. şi MAGNUSSON H. — Noi cercetări privind acţiunea B.C.G.-ului la porc. *Ann. Inst. Pasteur,* 1935, 54, p. 332.

JUŞKOVEŢ M. — Tuberculoza animalelor domestice şi metodele de combatere. Moscova *Selhozghiz.* 1948.

JUŞKOVEŢ M. — Despre durata valabilităţii tuberculinei. *Trudii gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnih preparatov,* 1952, 3, p. 85.

JUȘKOVEȚ M. — Contribuțiuni la problema combaterii tuberculozei la animale domestice. *Veterinaria*, 1953, nr. 3, p. 10.

JUȘKOVEȚ M. și TUZOVA R. — Despre tuberculoza păsărilor. *Veterinaria*, 1954, nr. 7, p. 1.

KARKADINOVSKAIA I. A. — Posibilitățile de folosire a R.F.C. pentru diagnosticul formelor acute de tuberculoză la bovine. *Veterinaria*, 1953, nr. 10, p. 36.

KERTAY N. și SZABO SZÜCS — Descoperirea bovinelor tuberculoase cu ajutorul probei de hemoliză după Middlebrook. *Acta, Vet. Hung.*, 1953, 3, p. 323.

KISELEV V. S. și FEDULOVA E. F. — Diagnosticul formelor deschise de tuberculoză la cornute mari. Metoda flotației. *Veterinaria*, 1951, 12, p. 34.

KISELEV V. S. — Creșterea viteilor sănătoși proveniți de la vaci cu reacții pozitive la tuberculină. *Veterinaria*, 1951, nr. 1, p. 18.

KLEBANOVA A. A. și SCREABINA L. E. — Asocierea metodei flotației cu metoda însămînțării. *Problemele tuberculozei*, 1951, 1, p. 48.

KOCEMASOVA Z. și col — Variabilitatea morfologică a micobacteriilor tuberculozei în creșterea lor timpurie în „Patologia tuberculozei și variabilitatea agentului ei patogen", *Medghiz, Moscova*, 1956.

KOCH R. — Etiologia tuberculozei. *Berliner Klin Wochenschr.*, 1882, 10 aprilie, p. 221.

KOCH R. — *Dtsch. Med. Wschr.*, 1890, 16, p. 1029, 1891, nr. 3 și nr. 43.

KOKURICEV I. P. — Clasificarea modificărilor tuberculoase la animalele domestice. *Analele Romîno-Sovietice, Zootehnie, medicină veterinară*, 1954, nr. 2, p. 99.

KOKURICEV I. P. — Tuberculoza primară la oi. Culegerea de lucrări științifice a Institutului de perfecționare a medicilor veterinari din Leningrad. Moscova-Leningrad, 1951, 7, p. 146.

KOKURICEV I. P. — Diagnosticul diferențial al leziunilor produse de B.C.G. *Culegere de lucrări științifice a Institutului de perfecționare a medicilor veterinari.* 1936, 2, p. 264.

KOTSIS E. — Un caz de tuberculoză la cal produs de bacili aviari. *Allatorv. Lapok.*. 1928, *Ref. Iahresbericht, Vet. Med.*, 1928, 2, p. 800.

KOSSEL, WEBER și HEUSS — Cercetări comparative asupra bacililor tuberculoși de diverse origini. *Tb. Arb. d. Kais. Ges.* A. 1904, caietul 1, 1905, caietul 3, p. 30.

LAENNEC — Traité de l'auscultation médiate. 1826, Paris, ediția a III-a.

LAFONT PH. — La tuberculose chez le mouton. *Teză.* Alfort, Franța, 1953.

LAGHIREV C. — Modificări anatomo-patologice la oile care au reacționat la tuberculinarea intradermică. *Veterinaria* 6/1951, p. 55.

LANGHANS T. — Asupra celulelor gigante cu nuclei marginali în tuberculi și asupra formei fibroase a tuberculilor, *Virchow's Arh. f. Path. Anat.*, 1868, 42, p. 383.

LANGRAND — Hygiène de la viande et du lait, 1908, p. 537.

LAPORTE R. — Despre două feluri de eliberare a tuberculinei din corpii bacilari: dezintegrare autolitică și extracție prin procedee fizico-chimice. *Ann. Inst. Pasteur*, 1944, 70, p. 115.

LAPORTE R. — Asupra unui antigen de natură granulară a bacilului tuberculos. *Ann. Inst. Pasteur*, 1945, 71, p. 51.

LENGYEL și col. — Leucoliza tuberculinică, test de laborator pentru diagnosticul tuberculozei oculare. *Rev. Ig. Microb. și Epidemiol.*, nr. 6, p. 33.

LEVADITI C. şi KREIS B. — Techniques de laboratoires en pneumologie. *Masson*, Paris, 1949.

LONG R. şi SEIBERT B. — *Am. Rev. Tuberc.*, 1926, 13, p. 393 şi 1937, 35, p. 281.

LÖWENSTEIN E. — Aspectul clinic al tuberculozei aviare la om. *Medicinische Klinik*, 1928, p. 1782.

LÖWENSTEIN E. — Valoarea comparativă a cercetării pe animale şi a metodelor culturale. *Zbl. f. Bakt. O.*, 1933, 133, p. 510.

LUCAS N. S. — Tuberculoză aviară la un marsupial. *J. Path. Bact.*, 1925, 28, p. 123.

MANNINGER R. şi KEMENES F. — Imunizarea contra tuberculozei bovine cu tulpina lui Gräub. *Acta. Vet. Hung.*, 1954, 4, p. 47 şi 1955, 5, p. 289.

MARCU G. — Procentul de tuberculoză şi trichinoză la abatorul din Brăila. *Arhiva veterinară*, 1915, 12, p. 336.

MEYER — Tuberculoză de injecţie la porci. *Berl. tierärtztl. Wochenschrift*, 1890, p. 374.

MEYER K. şi FROYEZ-ROEDERER — Asupra frecvenţei infecţiei bovine în tuberculoza ganglionară, osoasă şi articulară. *Ann. Inst. Pasteur*, 1940, 64, p. 167.

MEYER J. — Un caz fatal de tuberculoză produs de B.C.G., *Am. Rev. Tuberc.*, 1954, 70, p. 402 şi *Acta tuberc. Scand.*, 1954, 29, p. 173.

MEZDRIN D. M. — Diagnosticul tuberculozei la capre. *Veterinaria*, 1954, nr. 2, p. 17.

MIDDLEBROOK D. şi DUBOS R. J. — Aglutinarea specifică prin ser a eritrocitelor sensibilizate cu extract de bacili a tuberculozei. *J. Exp. Med.*, 1948, 88/521.

MIDDLEBROOK D. — *J. Clin. Investigation*, 1950, 29, p. 1480.

MIHĂILESCU M. — Contribuţii la studiul tuberculozei canine în Romînia. *Rev. Générale Méd. Vétérinaire*, 1929.

MIHĂILESCU M., LUPU A. şi TOMESCU V. — Cercetări anatomo-patologice şi microbiologice asupra tuberculozei cîinelui. *Arhiva veterinară*, 1938, 30, nr. 4, p. 1, nr. 5, p. 1.

MITCHEL C. A. — Discuţii. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1930, 29, p. 419.

MOZOROVSKI C. N. şi col. — Streptomicina în tratamentul tuberculozei. *Problemî tuberculioza*, 1949, 6.

MÜNDEL şi STREMPEL — Tipul uman şi bovin de bacili ai tuberculozei în tuberculoza umană. *Z. f. Hyg.*, 1930, 117, p. 139.

NALETOV N. A. — Analiza histo-patologică a organelor animalelor vaccinate cu O.V.S. şi cu B.C.G. *Problemî tuberculioza*, 1953, nr. 4, p. 24.

NASTA M. — Cercetări asupra mecanismului imunităţii în tuberculoză. *Arch. Roum. de Path. Exper.*, 1928, 1, p. 542 şi 1935, 8, p. 317.

NÈGRE L. şi BOQUET A. — Cercetări asupra valorii antigenice a emulsiilor bacilare şi a extractelor etilice şi metilice ale bacililor tuberculozei. *Ann. Inst. Pasteur*, 1921, 35, p. 300.

NIEBERLE K. — „Tuberculoza“ în Niberle şi Cohrs: Lehrbuch der speziellen Pathologischen anatomie der Haustiere, Jena, 1954, p. 144.

NICOLAU GH. ST. şi BLUMENTHAL M. — Asupra unui caz de lupus tuberculos datorit bacilului aviar. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, 101, p. 967.

NICOLAU GH. ST. şi BLUMENTHAL M. — Asupra unui caz de leziuni gomoase cutanate şi osteocutanate datorite bacilului tuberculos aviar. *Lucrările celui de al 8-lea Congres Internaţional de Dermatologie*, Copenhaga, 1930, p. 881.

NOCARD E. şi ROUX E. — Asupra cultivării bacilului tuberculozei. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, 1, p. 19.

NOCARD E. — Aplicarea injecţiilor de tuberculină la diagnosticul tuberculozei bovine. *Ann. Inst. Pasteur,* 1892, 6, p. 44.

OEDING M. D. şi HESSELBERG I. — Infecţia generalizată cu B.C.G. la om. Investigaţii bacteriologice. *Acta, Tuberc. Scand.,* 1954, 29, p. 180.

OERIU S. şi col. — Contribuţiuni la studiul chimioterapiei tuberculozei. *Editura Academiei R.P.R.,* 2 volume, 1949 şi 1951.

OERIU S., BOTEZ V. şi BUNESCU G. — Incercări de cultivare a bacilului tuberculos pe medii noi, preparate cu diverşi factori de creştere. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1952, 3, nr. 1—2 p. 113.

OGNERU D. — Relaţie dintre diagnosticul clinic, microscopic, experimental, anatomopatologic şi prin tuberculină în tuberculoza bovină. *Teză la facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1936.

O'HEA J. A. — Numărarea bacililor tuberculoşi vii. *J. Path. a Bact.,* 1955, 69, p. 169.

OIJEN VAN. — *Acta Veterinaria Neerlandica,* 1934, 1, nr. 3.

OPRESCU C. C., LÖBEL S. şi DIMBOVICEANU A. — Asupra raporturilor dintre evoluţia stării alergice şi elaborarea anticorpilor serici în infecţia tuberculoasă acută la iepure. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie,* 1953, 4, nr. 1—2, p. 199.

OSTERTAG R. — *Z. f. Flesch u. Milchhygiene,* 1893, p. 1.

PANISSET L. şi VERGE J. — Osteoartropatia hipertrofiantă de natură tuberculoasă la ciine. *Rev. Gén. Méd. Vét.,* 1924, 33, p. 165.

PARK K. W. şi KRUMWIEDE C. — Importanţa tipurilor uman şi bovin de bacili ai tuberculozei în diferite forme de tuberculoză umană. *J. M. Research,* 1910, 23, p. 205; 1911, 25, p. 213, 1912, 27 p. 109

PATYRA W. — Studii asupra valorii clinice a examenului sîngelui în diagnosticul tuberculozei bovine. *Ann. de l'Université Marie Curie-Sklodowska,* Lublin, 1952, 6, p. 325.

PAVEL M. — Orhita tuberculoasă la armăsar. *Referate de medicină veterinară de la Facultatea de medicină veterinară,* Arad, 1953.

PAVLOVSKI D. — Cultivarea bacililor tuberculozei pe cartof. *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, 2, p. 303.

PETROFF A. S. — J. Exp. Med., 1915, 22, p. 38.

PETRAGNANI — *Bull. Instituto Sieroterapico Milanese,* 1926, fasc. 8.

PIASECKA-ZEYLAND E. şi SZNAJDER W. — Contribuţie la determinarea tipurilor de bacili ai tuberculozei şi la problema frecvenţei infecţiei bovine, la om. *Beitr. Klin. Tbk.,* 1935, 86, p. 148.

PLUM N. — Tuberculoza aviară la mamifere. *Denkgl. Veterinaer og Landbohjskoles Aanskrift,* 1925, p. 63.

PLUM N. — Cercetări asupra tuberculozei aviare la vacă. *Cornell Veterinarian,* 1926, p. 250 şi 1931, 21, p. 68.

PLUM N. — Cercetări asupra tuberculozei porcine pe insula Bornholm în 1935. *Saertryk of Maonedsskrift, for Dyrloeger,* 1935, 47, p. 431.

PLUM N. — Modificarea virulenţei la bacilii tuberculozei. *Saertryk af Skandinavisk Veterinär Tidskrift* Arg. XXV, 1935, p. 397.

PLUM N. — Asupra luptei contra tuberculozei. Al. XV-lea congres internaţional de medicină veterinară, Stokholm, 1953.

POENARU I. — Citodiagnosticul în epanşamentele tuberculoase şi netuberculoase. *Arhiva veterinară,* 1906, 3, p. 1.

POENARU I. și RIEGLER P. — Două cazuri de tuberculoză ovină. *Arhiva veterinară,* 1920, 14, p. 54.

POETSCHKE G. și col. — Descoperirea bacililor tuberculozei cu ajutorul microscopului de contrast de fază *Z. f. Hyg. u. Infektionskr.,* 1954, 138, p. 442.

PONOMAREV G. F. — Rolul ciinilor în epizootologia tuberculozei. *Veterinaria,* 1955, nr. 2.

PRETTNER M. (PRAGA) — Contribuții la studiul posibilității transmiterii tuberculozei umane la animale. *Z. f. Tiermedizin* Bd. VI. *Ref. în Berl. tierärzt. Wochenschrift,* 1902, 25, p. 380.

PROZOROV A. A. — Studiul pH-ului mediului nutritiv pentru dezvoltarea bacilului tuberculozei și a saprofiților acidorezistenți. Publicat în „Patologia tuberculozei și variabilitatea agentului ei patogen". *Medghiz,* Moscova, 1956, p. 166.

PROHOROV V. A. — Măsuri practice pentru lichidarea tuberculozei la păsări. *Veterinaria,* 1955, nr. 11.

PROHOROV V. A. și col. — Aplicarea reacției de hemaglutinare pe lamă pentru diagnosticul tuberculozei, la găini. *Veterinaria,* 1955, nr. 11.

PUSZTAI S. — Cercetări asupra frecvenței formelor locale și generalizate în tuberculoza păsărilor. *Acta, Vet. Acad. Scient. Hungaricae,* 1956, 6, p. 161.

RANKE K. E. — Ausgewählte Schriften zur Tuberkulosepathologie. Editată de *W. și M. Pagel Springer,* Berlin, 1928.

RATZ ST. — Asupra tuberculozei la cal, după 2 cazuri raportate. *Állat. Lapok,* 1909, p. 549. Citat în *Rév. Gén. Méd. Vét.,* 1910, 16, p. 158.

REMLINGER P. — Asupra contagiunii tuberculoase de la cobai la cobai în laboratoare și crescătorii. *Ann. Inst. Pasteur,* 1923, 37, p. 686 și 784.

RIEGLER P. — Un caz de tuberculoză la papagal. *Clinica veterinară,* 1894, nr. 5.

RIEGLER P. — Bacili tuberculoși și paratuberculoși. *Arhiva veterinară,* 1904, 1, p. 168

RIEGLER P. — Tuberculoza din punct de vedere al inspecției cărnurilor. *Arhiva veterinară,* 1905, 2, p. 145 și 199.

RIEGLER P. — Tuberculoza la vrabie. *Arhiva veterinară,* 1912, p. 113.

RIEGLER P. și STAMATIN N. — O epizootie gravă de tuberculoză la o fazanerie *Arhiva veterinară,* 1934, 26, p. 85.

RIST, REYT și TUCHILĂ — *Bull. Acad.-Medicine,* Paris, 1938.

ROBINSON E. M. — Tuberculoza la oaie și capră. *J. S. Afric. Veterin. Med. Assoc.,* 1955, 26, p. 95.

ROTOV I. V. — Tuberculinizarea dublă a găinilor, *Veterinaria,* 1954, nr. 12.

ROTOV V. I. și LEBEDEV V. I. — Eficacitatea tuberculinizării la porci. *Sptiolesp Tvarînnățtvo,* 1956, 28, nr. 4, p. 61.

RUSSEFF CHR. și col. — Studii asupra tuberculinei din punctul de vedere al praticii veterinare. *Z. f. Infektionsr. Parasitäre kr. Haustiere,* 1937, 51, p. 113 și p. 215.

SAENZ A. și COSTIL L. — Diagnostique bactériologique de la tuberculose. *Masson,* Paris, 1936.

SAUTON B. — *Al VIII-lea Congres de chimie aplicată,* 1912, 19, p. 267.

SIRMON E. — Cercetări experimentale asupra stabilirii tipului de tuberculoză la ciine. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* București, 1939.

SCEPILOV S. N. — Asanarea regiunilor cu tuberculoză la vitele cornute mari și găini *Veterinaria,* 1951, 2, p. 19.

SCEPILOV S. N. — Cultură de bacilul tuberculozei obținută din ouăle găinilor tuberculoase. *Veterinaria,* 1954, nr. 2, p. 18.

SCEPILOV S. N. — Tuberculinizarea palmipedelor. *Veterinaria,* 1955, nr. 9.

SCHAEFER W. — Distincția a patru tipuri serologice printre bacilii tuberculozei de grup aviar. *Ann. Inst. Pasteur,* 1937, 58, p. 388.

SCHAEFER W. — Identificarea serologică a bacililor tuberculoși de tip bovin. *Ann. Inst. Pasteur,* 1947, 73, p. 1157.

SCHLIESSER TH. — Eficacitatea microscopiei contrastului de fază în descoperirea bacililor tuberculoși bovini. *Zbl. f. Bakt., Infektionskr. und. Hyg. O,* 1955, 164, p. 709.

SCHOENING — *Annual Report of the Bureau of Animal Industry U.S.A. Departament of Agriculture,* 1936.

SEIBERT F. B. — *Amer. Rev. Tuberc.,* 1928, 17, p. 402 ; 1934, 30, p. 713.

SEIBERT F. B. și GLENN — *Amer. Rev. Tuberc.,* 1941, 44, p. 9

SCHIER — *Ann. Inst. Pasteur,* 1950, 70, p. 283.

SIMINTZIS G. și col. — Procedeu complementar de luptă contra tuberculozei bovine, bazat pe serologie. *Bull. Soc. Sci. Véter. Lyon,* 1954, 56, p. 171.

SINGER J. și CYSNER E. — *Am. Rev. Tuberc.,* 1952, 65, p. 779.

ȘIȘKINA A. E. — Tuberculoza și tuberculinizarea oilor. *Veterinaria,* 1955, nr. 9.

SLĂTINEANU A. și DANIELOPOLU D. — Sensibilizarea la infecția tuberculoasă printr-o injecție prealabilă de tuberculină. *C. R. Soc. Biol.,* 1908, 64, p. 89 și p. 418 și 1909, 66, p. 652.

SLĂTINEANU A. și IONESCU-MIHĂEȘTI C. — Persistența tuberculinei în organismul caprei. *C. R. Soc. Biol.,* 1908, 64, p. 420.

SMITH TH. — Un studiu comparativ al bacililor tuberculozei bovine și al bacililor umani din spută. *J. Exp. Med.,* 1898, 3, p. 451.

SMITH și SCOTT — *Am. Rev. Tub.* 1950, 62, p. 121.

SOITUZ V. — Blocajul sistemului reticulo-endotelial și rezistența la infecția tuberculoasă. *Arhiva veterinară,* 1931, 23, p. 77.

SPARTZ — Tuberculoza animalelor de măcelărie în marele ducat Luxemburg. *Rev. Gén. Méd. Vét.,* 1924, 33, p. 117.

STABLEFORTH A. W. — Investigații bacteriologice asupra tuberculozei la 5 pisici, 6 câini, un papagal și un cangur. *J. comp. Path. a. Therap.* 1929, 42, p. 184.

STAMATIN N. și TOMESCU V. — Cercetări asupra virulenței bacilului tuberculozei aviare. *C. R. Soc. Biol.,* 1938, 127, p. 1348.

STAMATIN N. și STAMATIN L. — Virulența celor trei tipuri de bacili ai tuberculozei pentru șoarecele alb. *C. R. Soc. Biol.,* 1939, 131, p. 511.

STAMATIN N. și BLOCH FR. — Caracterele leziunilor produse la șoarece de cele trei tipuri de bacili ai tuberculozei. *C. R. Soc. Biol.,* 1939, 131, p. 695.

STAMATIN N. și STAMATIN L. — Virulența celor trei tipuri de bacili ai tuberculozei pentru șoarecele alb. *Ann. Inst. Pasteur,* 1939, 63, p. 269.

STAMATIN N. — Bacilul tuberculos și infecția tuberculoasă. *Imprimeria națională,* București, 1948.

STAMATIN N. și BERBINSCHI C. — Influența hidroxidului de aluminiu asupra infecției tuberculoase experimentale la șobolan. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1950, 2, p. 122.

STAMATIN N. și CERNI I. — Tipurile de M. tuberculosis izolate de la porci în R.P.R. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1955, 5, p. 43.

STOENESCU V., SANDULESCU ST. şi DRAGHICI D. — Tuberculinarea intradermică repetată în diagnosticul alergic al tuberculozei aviare. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1955, 5. p. 28.

STUART P. şi MARSHALL M. — Tuberculoză mamară la vacă produsă de tipul aviar *Vet. Rec.*, 1952, 64, p. 309.

SZABO SZÜCS — Cercetări privind determinarea virulenţei şi a capacităţii de producţie a tuberculinei la tulpinile de bacili ai tuberculozei. *Acta, Vet. Acad. scient. Hungaricae,* 1956, 6, p. 167.

TACQUET A. şi col. — Hidroliza ureii de către micobacterii. *Ann. Inst. Pasteur,* 1954, 87, p. 335.

TACU D. — Frecvenţa bacilului tuberculozei în laptele de vacă de pe piaţa Bucureştiului. *Arhiva veterinară,* 1939, 31, nr. 4—5, p. 42.

TACU D. şi VOLINTIR V. — Cercetări asupra tuberculinării intradermice duble la bovine. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1949, 1, p. 75.

TACU D. — Cercetări asupra frecvenţei bacilului tuberculos în laptele de vacă din jurul Bucureştiului. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 159.

TACU D. — Constribuţii la studiul lesiunilor anatomopatologice şi frecvenţa lor în tuberculoza păsărilor. Hommage à la mémoire du Prof. P. Riegler Bucureşti 1957.

TEMPEL — Despre posibilitatea transmiterii tuberculozei de la om la porc. *Z. f. Fleisch u. Milchyg.*, 1902, 12, p. 11 şi 251.

TERENTIEV F. A. — Despre reacţiile dubioase în reacţia intradermică cu tuberculină la rumegătoarele mari. *Veterinaria,* 1953, 7, p. 13.

TODIRAŞCU M. — Cercetări experimentale asupra transmiterii tuberculozei prin piele şi mucoase. *Teză,* 1905.

TOMESCU V. — Contribuţii la studiul bacilemiei tuberculoase experimentale la câine prin metoda lui Löwenstein. *Arhiva veterinară,* 1933, 25, p. 1.

TOMESCU V. şi FIRU D. — Bacilemia în tuberculoza spontană a porumbelului. *Arhiva veterinară,* 1933, 25, nr. 5—6.

TOMESCU C. V. — Bacilemia în tuberculoza aviară şi importanţa sa. *Al VI-lea Congres mondial de avicultură,* Berlin — Leipzig, 1936, vol. II, p. 173.

TOMESCU V. şi CREANGĂ EM. — Tuberculinarea intradermică înaintea spetei la bovine. *Arhiva veterinară,* 1939, 31, nr. 6, p. 33.

TOMESCU V. — Studiu anatomo-patologic al tuberculozei spontane la maimuţă. *Arhiva veterinară,* 1942, 34, nr. 1—3, p. 61.

TRIUS M. V. şi IASCINNO T. N. — Folosirea factorului de difuziune pentru creşterea acţiunii imunogene a vaccinului B.C.G. în condiţii experimentale. *Problemi tuberculioza,* 1953, nr. 4, p. 13.

UHLENHUTH — *Deut. Klin. Wschr.*, 1908, nr. 27.

URBAIN A. — Reacţia de fixare aplicată în diagnosticul tuberculozei carnivorelor domestice. *Ann. Inst. Pasteur,* 1925, 39, p. 764.

VALTIS J. — Le virus tuberculeux. *Masson,* Paris, 1932.

VASARHELYI şi GÖSZY — *Z. f. Immunitätsf.*, 1939, 97, p. 255.

VASIN A. — Asupra problemei despre influenţa factorilor externi asupra stării alergice în T.B.C.-ul vitelor cornute mari. *Veterinaria,* 1951, 12, p. 291.

VERGE J. şi SENTHILLE F. — Cercetări asupra frecvenţei diferitelor tipuri de bacilii tuberculozei în infecţia spontană la pisică. *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, 68, p. 114.

VERGE J. — *Bull. Acad. Méd.*, Paris, 1945, 29, p. 222.

VILLEMIN — Cauzele şi natura tuberculozei. *Bull. Acad. Médicine*, Paris, 1865, 5 decembrie şi *Réc. méd. vét.*, 1867, p. 5 şi p. 74.

VOICULESCU TH. — Bacili acidorezistenţi la vipere. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, p. 583.

VOICULESCU TH. — Acţiunea acidului lactic asupra bacililor acidorezistenţi. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, p. 435.

VUILLAUME R. — Organizarea actuală a luptei contra tuberculozei bovine. *Bull. Acad. Vet. France*, 1955, 28, p. 283.

WAGENER K. — Problema tuberculozei bovine din punct de vedere medical şi economic. *Beitr. Klin. Tbk.*, 1950, 104/1, p. 7.

WAGENER K. şi REUS N. — Importanţa actuală a infecţiei bovine în producerea tuberculozei la copii în Germania. *Berl. und Münch, tierärzt. Wschr.*. 1953 66, p. 231.

WEBER şi BOFINGER — Tuberculoza găinilor, relaţiile ei cu tuberculoza mamiferelor şi transmiterea ei la animale de experienţă. *Tuberkulose arbeiten d. Kais. Ges. Amt.* 1904, Heft., 1.

WEDERLIN CHR. — Cercetări asupra tipurilor de bacili ai tuberculozei de la cal. *Maanedsskrift for Dyrbreger*, 1935, 47, p. 81.

WELLS A. Q. — Tipul murin al bacilului tuberculozei. *Medical Res. Council. Special Repport.*, seria nr. 259, Londra, 1946.

WELLS A. Q. — Vaccinarea cu tipul murin de bacili ai tuberculozei (tulpina Vole). *Lancet*, 1949, 2, p. 53—55.

WVEDENSKY K. K. — *Archiv. biologiskih Nauk*, 1923, 23 şi *Zbl. f. gesamte Tuberkuloseforschung*, 1924, 24, p. 262.

YERSIN A. — Acţiunea unor antiseptice şi a căldurii asupra bacilului tuberculozei. *Ann. Inst. Pasteur*, 1888, 2, p. 60.

ZIEGLER M. — *Die Eutertuberkulose des Rindes*, Leipzig, 1953.

ZWICK W. — Cercetări comparate asupra bacililor tuberculozei oamenilor şi animalelor. *Z. f. Infektionskr.*, 1908, 4, p. 161.

ZWICK W. — Relaţiile dintre tuberculoza mamiferelor şi tuberculoza aviară. *Zbl. f. Bakt. I. Abt. Ref.*, 1910, 47, supl. p. 190.

ZWICK W. şi ZELLER — Problema transformării bacililor tuberculozei mamiferelor în bacili aviari. *Arbeiten aus dem Kaiserliche Gesundheitsamte*, 1914, 47, p. 614.

* * * — Tuberculoza în S.U.A. *Med. News C.I.B.A.* New-York, 1956, oct. 8.

* * * — Tuberculoza bovină în Marea Britaniei. *J. Am. Vet. Ass.*, 1954, 124, p. 309

Mycobacterium paratuberculosis (Johne) Bergey, 1930

Sinonime: *Bacillus paratuberculosis* Johne et Frothingham, 1895.
Numele comun: bacilul enteritei hipertrofiante sau al paratuberculozei bovideelor (*Enteritis paratuberculosa bovum*)

Germenul a fost izolat, în cultură pură, în 1912, de Twort şi Ingram, după ce o serie de cercetători (Johne şi Frothingham, 1895, Bang, Mc. Fadyean şi alţii) au descris boala şi au diferenţiat-o de infecţia tuberculoasă.

Caractere morfologice. Bacteria se prezintă fie ca un bastonaş fin, alungit, drept sau uşor încurbat şi măsurînd 1—1,5 microni lungime 0,3—0,5 microni lăţime, fie ca un coc sau o granulaţie, cu diametrul de 0,3—0,5 microni. Celulele bacteriene pot fi izolate sau dispuse radiar, constituind, în acest din urmă caz, grămezi de formă poligonală sau circulară. În mediile lichide, elementele prezintă un accentuat polimorfism.

Bacilul este imobil, asporulat şi necapsulat.

Acidorezistent, dar rezistă mai puţin decît bacilul tuberculozei şi mai mult decit bacilii saprofiţi la acţiunea decolorantă a diverşilor acizi. Bacilul lui Johne ocupă deci o poziţie de mijloc între cele două grupe de bacterii acidorezistente: bacilii tuberculozei, de o parte, bacilii acidorezistenţi saprofiţi pe de altă parte. Bacilul lui Johne este de asemenea mai sensibil decît bacilii tuberculozei la acţiunea decolorantă a soluţiilor de sulfat de sodiu.

Mazza şi Nino (1921), Hauduroy şi Sansonneus (1943) folosesc, plecînd de la aceste constatări, metoda lui Konrich pentru a diferenţia bacilii tuberculozei de bacilii paratuberculozei şi care constă din:

1) colorarea lamei cu fucsină fenicată, la cald, 10 minute, ca în metoda Ziehl;

2) decolorarea timp de 12—20 de ore într-o soluţie 10% de sulfat de sodiu;

3) tratare cu alcool 5 minute;

4) recolorare cu o soluţie saturată de acid picric sau cu o soluţie de albastru de metilen.

Bacilii tuberculozei rămîn, după această tratare, coloraţi în roşu, ceilalţi bacili acidorezistenţi, de cele mai multe ori, se decolorează.

Se colorează prin metoda Ziehl-Neelsen.

Kujumgiev (1952) obţine o bună colorare a bacilului din fecale prin metoda folosită de Hallberg pentru colorarea diferenţială, în raport cu acidorezistenţii saprofiţi, ai bacililor tuberculozei şi leprei, metodă în care însă soluţia de Nachtblau este înlocuită cu o soluţie Victoriablau Ciba, iar coloraţia de contrast este făcută cu o soluţie 2% de vesuvină în apă. Bacilii, prin această metodă, se colorează în albastru-intens, fondul frotiului fiind brun-clar.

Gram pozitiv.

Prin forma şi afinităţile sale tinctoriale, bacilul se apropie, pînă la identificare, de bacilul tuberculozei.

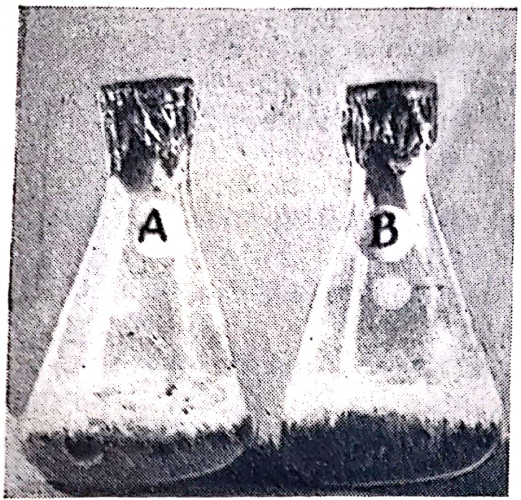


Fig. 101 — Mycobacterium paratuberculosis (după Wardman)
Cultură pe mediu lichid

Medii și caractere de cultură. Bacilul nu se cultivă pe medii obișnuite, dar se multiplică pe medii glicerinate, cărora li se adaugă, fie bacili ai tuberculozei, paratuberculozei sau fleolei morți, fie extrase din acești bacili. Boquet (1928) obține culturi bogate pe mediul Sauton, căruia îi adaugă, în proporție de 10%, un extract obținut în felul următor: 10 g de bacili ai fleolei (bacil acidorezistent, saprofit), provenind dintr-o cultură de 14 zile în bulion glicerinat; se pun în suspensie în 300 ml de apă glicerinată 20% și sărată 0,8%, totul se agită bine, apoi amestecul se ține 1 oră la 120°C; se lasă în repaus și după sedimentarea bacililor lichidul de deasupra se decantează, el constituind extrasul care se adaugă mediului Sauton. Lichidul Sauton, după amestecarea cu extract, se sterilizează 15 minute la 118°C.

Pe acest mediu, bacilul paratuberculozei constituie, în 3—4 săptămîni, o membrană albă, subțire, încrețită, ale cărei dimensiuni cresc pînă în a doua sau a treia lună după însămînțare. După acest interval de timp, un balonaș, cu 120 ml mediu, poate conține 5—6 g de cultură.

Bacilul se cultivă și pe unele medii solide, cum sînt serul coagulat și glicerinat, mediile cu ou folosite pentru cultivarea bacilului tuberculozei, cartoful obișnuit, la care se adaugă ca lichid, mediul Sauton cu adaos de extract din bacilul fleolei. In mediile cu ou (Dorset sau Löwenstein), bacilii fleolei omorîți prin căldură, uscați și triturați în mojar se adaugă în proporție de 0,5—1%. Coloniile, pe aceste diverse medii solide, devin vizibile după 1—2 luni; ele sînt inițial rotunde, bombate, neaderente la mediu; în jurul lor se constituie prin învechire o membrană fină, albă, uscată, care se întinde încet pe toată suprafața mediului.

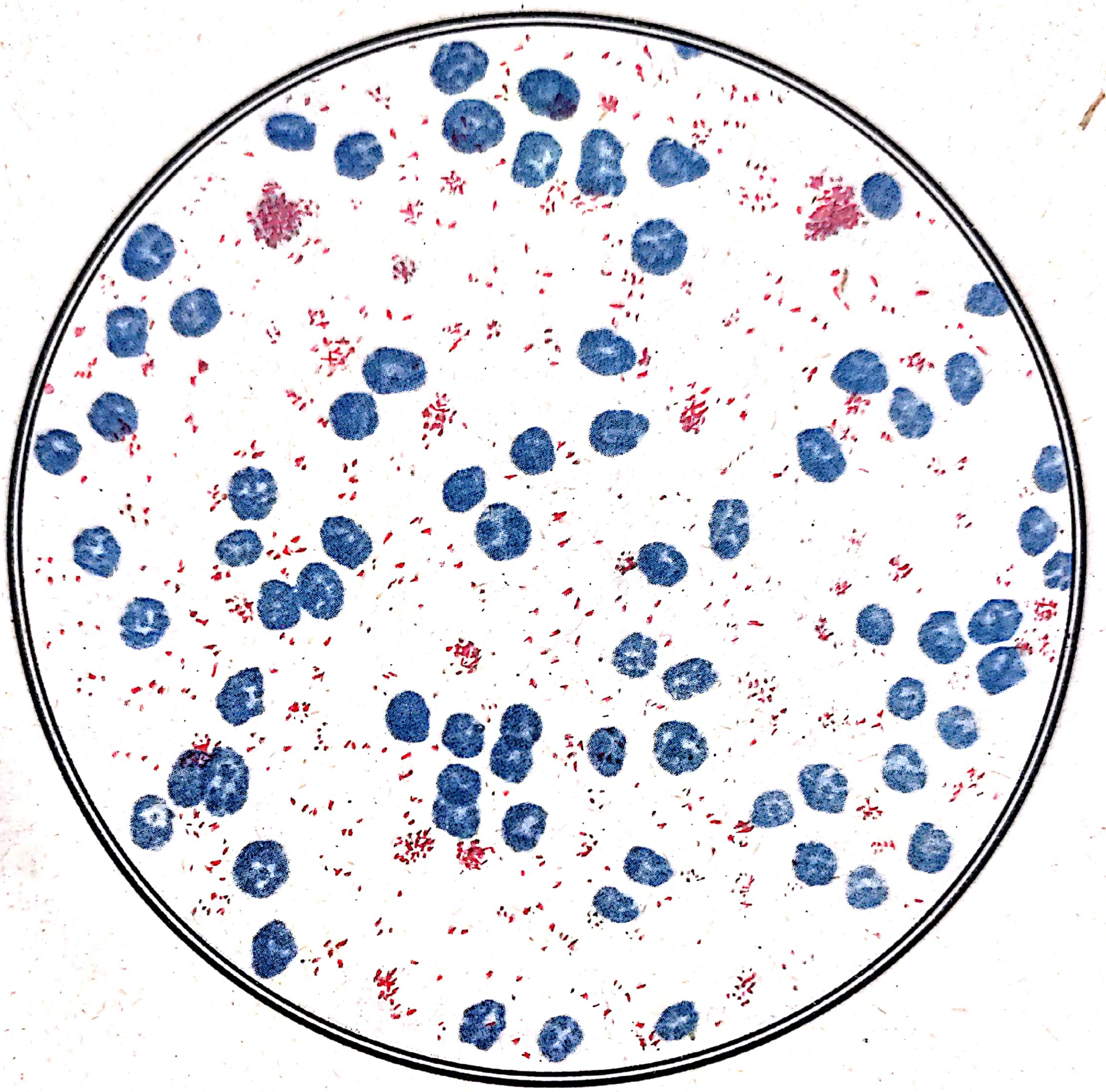
Alikaeva, citată de Strogov (1953), recomanda pentru izolarea și cultivarea bacilului un mediu solid, care ar da foarte bune rezultate. El are la bază un extract de cartofi, un lichid nutritiv și oul de găină.

Extractul de cartofi.

450 ml apă distilată;
20 g făină de cartof;
3 cartofi de mărimea oului de găină tăiați în bucăți.

Amestecul se fierbe pe baie de apă timp de 1 oră, apoi se trece prin tifon. Lichidul trecut prin tifon se amestecă în proporții egale cu soluția Long-Seibert la care s-a adăugat anterior extract de bacili Timofeev sau bacili ai fleolei.

Lichidul nutritiv Long-Seibert are următoarea compoziție:



Mycobacterium paratuberculosis
Frotiu din ganglioni limfatici (după *Kujumgiev*)

asparagină	5	g
fosfat monobazic de potasiu	3	g
sulfat de magneziu	1	g
citrat de amoniu	5	g
sodă anhidră	2,5	g
clorură de sodiu	2	g
citrat de fier amoniacal	0,05	g
glicerină	50	ml
apă	1 000	ml

Se repartizează în baloane (100 ml) şi se sterilizează de două ori la 100°C cîte 35 de minute. Lichidul se păstrează timp îndelungat la rece.

Prepararea mediului. Se iau trei ouă, se aseptizează coaja, se sparg şi conţinutul lor este pus într-un balon steril, cu perle. Se adaugă 100 ml din amestecul în părţi egale de extract de cartofi plus lichid Long-Seibert. Se mai adaugă 5 ml soluţie apoasă 0,75% de verde malachit. Mediul se distribuie în tuburi şi se sterilizează 3 zile consecutiv, cîte 1 oră, la 80°C. Cînd tuburile nu au suficient lichid de condensaţie, li se pot adăuga bulion Martin.

Izolarea bacilului din ganglionii limfatici, fără floră secundară, se face însămînţînd materialul aspirat cu o pipetă pe un mediu solid (de preferinţă cartof cu Sauton şi extract din bacilul fleolei). Însămînţarea trebuie să fie abundentă.

Materialul cu flora secundară — intestin — se tratează astfel: se spală bine cu apă porţiunea de intestin lezionată şi apoi se triturează cu nisip într-un mojar; se adaugă 8—10 volume de soluţie, 0,4% de NaOH şi se lasă 3 ore la etuvă. Apoi amestecul se centrifughează, se neutralizează şi se însămînţează pe mediu solid. Rezultate bune se pot obţine şi prin metoda recomandată de Saenz şi Costil pentru izolarea bacilului tuberculozei. Coloniile, pe mediile însămînţate după o metodă sau alta, apar după 4—5 săptămîni. Ele sînt mici, izolate. Prin transplantări germenul se adaptează la mediu şi coloniile devin din ce în ce mai mari.

Proprietăţi fiziologice. Germenul este aerob.

Temperatura optimă de dezvoltare 38—39°C; se dezvoltă şi la 42—44°C, dar nu la 46—48°C.

pH-ul optim = 7,2, limitele de dezvoltare fiind cuprinse între 6,8 şi 8.

Rezistenţă. Culturile sînt transplantabile după o conservare de 4—5 luni la 37°C. Faţă de factorii fizici sau chimici se comportă, în linii generale, ca şi bacilul tuberculozei.

Patogenitate. Bacilul nu secretă toxine. Animalele de laborator — cobaiul — suportă doze însemnate de bacili morţi — 150—200 mg. Bacilul are componenţi chimici identici cu ai bacilului tuberculozei, ceea ce face ca anticorpii şi reaginele provocate de unul din bacili să răspundă şi faţă de celălalt. Astfel, cobaii sensibilizaţi cu bacilii tuberculozei dau reacţii alergice şi faţă de bacilii paratuberculozei.

Infecţia experimentală. Bang, în 1906, reproduce infecţia la doi viţei, cărora le-a administrat, per os, cîte 300 g de mucoasă intestinală, iar intravenos sau intraperitoneal cîte 40 ml dintr-o suspensie de ganglioni infectaţi. Culturile pure, administrate pe cale intravenoasă, reproduc de asemenea infecţia la bou, oaie, capră. Simptomele, în acest caz, apar, în medie, după 2—3 luni şi infecţia are o evoluţie benignă. Starea alergică se instalează tîrziu după infecţie, 3—13 luni (Strogov, 1953). Germenul produce la viţei, pe cale subcutană, un abces local, vindecabil. Animalele de laborator sînt practic refractare. Cobaiul şi iepurele nu fac o infecţie evolutivă nici după administrarea, pe cale intraperitoneală, a unor doze masive — 80—150 mg de bacili.

Şobolanul alb, după Boquet (1925), are o oarecare sensibilitate faţă de acţiunea patogenă a bacilului paratuberculozei. Doze de 5—10 mg, inoculate pe cale intraperitoneală, produc noduli cu centru necrotic, cazeificat, pe peritoneu şi în epiploon, precum şi hipertrofia ganglionilor traheo-bronhici şi mediastinali. Bacilii se găsesc în materialul cazeificat al nodulilor peritoneali şi epiplooici, ca şi în ficat şi splină. Leziunile se accentuează dacă animalele sînt reinoculate, după 15—20 de zile, cu 10—30 mg de bacili. De asemenea, amestecul bacililor cu parafină măreşte capacitatea lor patogenă. Infecţia şobolanului pare totuşi dificilă. Kujumgiev (1951), de exemplu, nu a reuşit să infecteze acest rozător.

Şoarecele este mai rezistent decît şobolanul alb; totuşi, anumite tulpini, în doze de 5—10 mg, administrate pe cale intraperitoneală, produc leziuni asemănătoare cu cele descrise la şobolanul alb. Levaditi şi colaboratorii (1953) obţin, la şoareci, de asemenea cu o anumită tulpină, o infecţie mortală, în proporţie de 60%, cu doza de 1 mg de bacili injectaţi pe cale intravenoasă. Animalele astfel injectate prezintă în timpul vieţii tulburări nervoase (înclinarea capului, rotaţie pe axul antero-posterior), iar după moarte abcese miliare în rinichi şi creier.

Găina şi porumbelul au un grad oarecare de receptivitate, şi inoculaţi pe cale intramusculară, cu bacili amestecaţi cu nisip, albastru de tripan sau iodură de potasiu fac o reacţie inflamatorie locală, în care bacilii se multiplică şi persistă mult timp.

Infecţia naturală este întîlnită la bovine, bubaline, ovine, caprine, şi — după cum au observat Dorofeev şi Kolacev (1949) — şi la unele ungulate sălbatice: zebră, antilopă. Ţigankov şi Kiseleva (1950), Jakunina (1954) au semnalat şi descris boala la cămilă. Infecţia este răspîndită în multe ţări din Europa, ca Germania, Anglia, Franţa, U.R.S.S., precum şi în ţări extraeuropene ca S.U.A. şi India. În România, s-au semnalat doar cazuri sporadice (Laslo, 1929, Popovici, 1935, Sălăgeanu şi Drăghici, 1954). În Bulgaria boala pare a fi mai răspîndită (Kujumgiev, 1950, 1951, 1953). Animalele tinere — viţei pînă la 2 ani, cămilele pînă la 2½ sînt mai receptive ca animalele adulte şi fac forme care evoluează destul de repede 1—2 luni. La animalele adulte boala evoluează de regulă, într-un timp mai lung, 4—10 luni (Kujumgiev, 1950). Animalele cu tulburări metabolice sînt mai receptive ca cele în stare de perfect echilibru fiziologic. Astfel, cămilele tinere, care sug pînă la vîrsta de 17 luni, nu se îmbolnăvesc niciodată în această perioadă, ci numai după înţărcare, mai ales cînd condiţiile de întreţinere şi alimentaţie din această fază nu sînt corespunzătoare (Jakunina). Animalele care se nutresc pe soluri sărace în săruri de calciu, fosfor, magneziu, par mai predispuse decît cele care cresc pe soluri bogate în asemenea săruri. În general, se consideră că solurile sărace în calciu și cu aciditate mare favorizează apariția bolii. Nu se constată diferențe de receptivitate în raport cu rasa și sexul.

Infecția pare a fi deci condiționată, într-o mare măsură, de factorii de mediu, ceea ce reiese și din constatarea că în țara noastră deși s-au semnalat cazuri clinice, infecția nu s-a răspîndit. Se pare deci că în Romînia nu sînt condiții favorabile dezvoltării acestei infecții.

Materialul infecțios este de regulă reprezentat prin materiile fecale ale animalelor bolnave, materii care conțin un număr mare de germeni. Aceștia ajung o dată cu alimentele în tubul digestiv al animalelor sănătoase, de unde trec în straturile submucoase ale intestinului, unde se multiplică, provocînd modificările funcționale și anatomice caracteristice bolii.

Boala este introdusă în regiunile sau țările indemne o dată cu animalele bolnave. Păscutul pe aceeași pășune a animalelor purtătoare și sănătoase asigură transmiterea infecției la acestea din urmă.

Perioada de incubație este de durată foarte variabilă. Uneori simptomele își fac apariția cîteva luni după pătrunderea bacililor, alteori după ani de zile. Apariția simptomelor este adeseori legată de intervenția unui factor depresiv, cum sînt : gestația, lactația, hrana insuficientă, munca excesivă etc.

Tipul evolutiv al infecției este determinat de rezistența nespecifică a animalului. La unele animale, boala nu se manifestă decît prin apariția stării alergice, la altele boala îmbracă o formă gravă, mortală. Pașov descrie de exemplu la oi, forme de paratuberculoză care au evoluat malign, manifestîndu-se printr-o diaree profuză și sfîrșind cu moartea în 14—17 zile, deși, de regulă, la oaie, infecția este inaparentă. La bovine, formele inaparente sînt mai rare, dar se pot întîlni. Există cazuri cînd asistăm la o vindecare aparentă a bovinelor, cu dispariția simptomelor clinice și cu o revenire la producția normală. Aceste animale rămîn totuși purtătoare de bacili, constituind cele mai periculoase izvoare de infecție. De cele mai multe ori însă, la bovine, boala evoluează malign și se manifestă printr-o diaree cronică și cașectizantă. Animalele defecă des. Materiile fecale sînt lichide, spumoase, cu bule de gaz și porțiuni de mucoasă, dar ceea ce le caracterizează în special este mirosul respingător pe care ele îl exală. Ceea ce atrage într-adevăr atenția clinicianului, atunci cînd intră într-un grajd în care sînt bovine bolnave de paratuberculoză, este acest miros respingător, exalat de materiile fecale. Fecalele se pot elimina intermitent sau în jet continuu. Animalul bolnav este slăbit, abdomenul supt, părul zbîrlit, aspru, fără luciu, pielea uscată și aderentă la țesuturile subiacente ; coada, perineul și părțile posterioare sînt murdărite de fecale. Persistaltismul este exagerat. Pofta de mîncare este redusă, dar nu total abolită ; în schimb, animalul bea multă apă. Mucoasele sînt anemice, de culoare albă, cretacee. Examenul hematologic pune în evidență o limfopenie manifestă ; numărul eozinofilelor și mai ales al neutrofilelor este în schimb și de regulă crescut. Numărul hematiilor este scăzut mult sub cifra normală. Tempe-

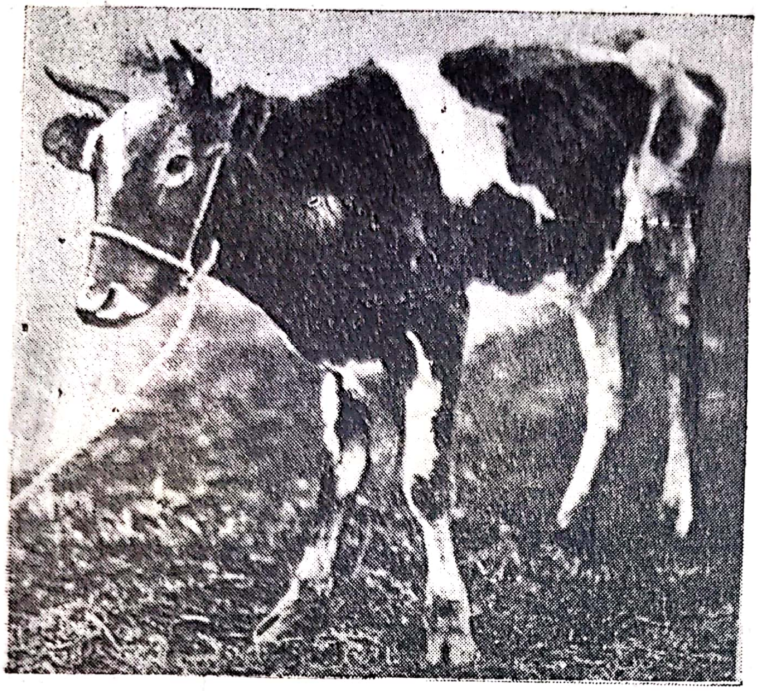


Fig. 102 — Viţel bolnav de paratuberculoză (după Hagan, 1945)

Formă avansată

ratura se menţine în limite normale. În faza ultimă a bolii pot apărea edeme declive. Kujumgiev (1951) semnalează la animalele bolnave edemul regiunii submaxilare. Durata bolii este foarte variabilă. La unele animale, moartea survine după cîteva săptămîni de la instalarea simptomelor, la altele după luni şi chiar ani. În aceste din urmă cazuri există perioade de remisiuni, care alternează cu perioade în care diareea — simtomul principal al bolii — este mai mult sau mai puţin accentuată.

Leziunile, la animalele sacrificate sau moarte, sînt de intensitate cu totul variată. În formele incipiente, ca şi în cele cu evoluţie benignă, se întîlneşte doar un catar al mucoasei intestinale. În formele maligne se constată însă modificări profunde ale mucoasei tubului digestiv, în special ale mucoasei rectului şi intestinului gros. Mucoasa şi submucoasa, în regiunile lezate, sînt mult hipertrofiate, ele putînd depăşi de 5—20 de ori grosimea normală şi închizînd aproape complet lumenul intestinal. În plus, mucoasa este palidă, dură şi acoperită cu un mucus dens, vîscos, de culoare gri-albicioasă. Suprafaţa mucoasei este încreţită, avînd aspect cerebriform, dar ea nu prezintă ulcere sau necroze. Încreţirea mucoasei, se accentuează după selecţionarea longitudinală a intestinului şi spălarea cu apă rece Kujumgiev, 1951). Îngroşarea mucoasei se datoreşte formării unui ţesut specific, constituit în special din macrofage şi epitelioide. În afară în

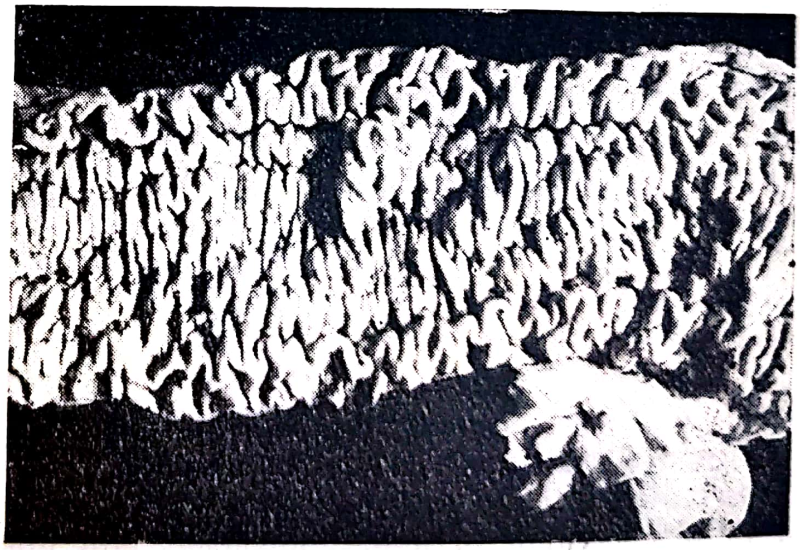


Fig. 103 — Paratuberculoză bovină (clişeu: M. Cristescu)

Aspectul mucoasei intestinale

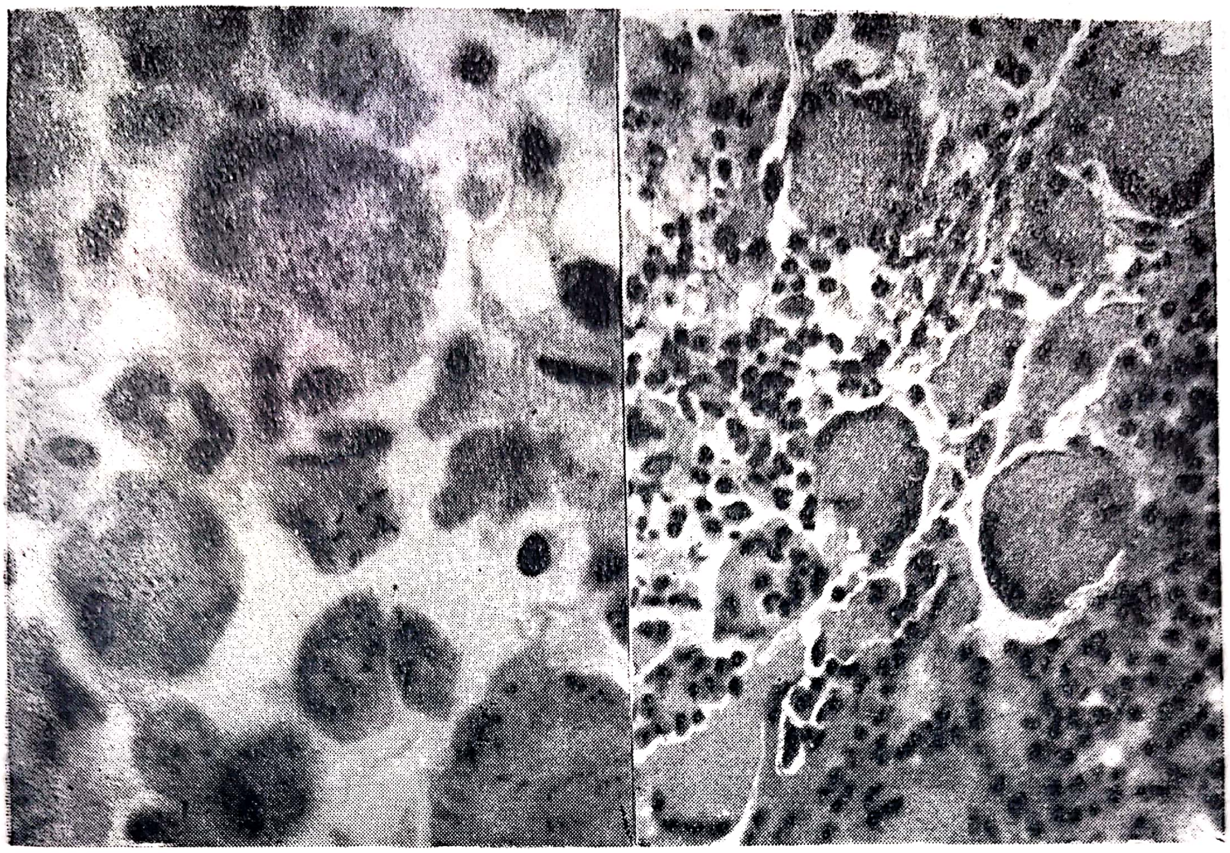


Fig. 104 — Paratuberculoză bovină

Secțiune prin intestin. Colorație: Ziehl. Se observă celule cu bacili înglobați

rect și intestinul gros, leziunile se mai pot găsi în intestinul subțire și în cheag. Ganglionii limfatici mediastinali, aferenți porțiunilor de intestine lezate, sînt ușor hipertrofiați și edemațiați. În formele grave, cașectizante, se găsesc leziuni de tip marasmatic (exsudate în cavități seroase). Mușchiul cardiac este flasc și sîngele este greu coagulabil, anemic.

Histologic, în regiunile lezate ale intestinului se constată o infiltrație a stratului mucos și submucos cu limfocite, epitelioide și macrofage. Celulele gigante sînt rar întîlnite. În ganglionii limfatici lezați există o reacție histiocitară și mai rar limfocitară. De asemenea, sînt prezente, în număr mare, celule gigante.

Diagnosticul, în timpul vieții, se bazează pe examenul clinic, serologic (reacția de fixare a complementului), bacteriologic și alergic. Animalele cu paratuberculoză fixează alexina atît în prezența antigenului tuberculos, cît și a celui paratuberculos. Valoarea de diagnostic a reacției de fixare a complementului este însemnată. După Kujumgiev (1951), această reacție este pozitivă în proporție de 100% la animalele cu simptome clinice, în proporție de 65% la cele cu reacții alergice pozitive, dar fără simptome clinice, și în proporție de 44,5% la cele cu reacții alergice dubioase.

În vederea diagnosticului bacteriologic se fac frotiuri din porțiunile de mucoasă eliminate prin materiile fecale sau recoltate din rect cu degetul sau cu o lingură; frotiurile se colorează după metoda Ziehl-Neelsen, sau metode similare, dar mai elective. După Kujumgiev (1952), metoda Hallberg modificată de autor dă mai bune rezultate ca metoda Ziehl-Neelsen. Prezenţa bacililor acidorezistenţi, aşezaţi în grămezi, confirmă diagnosticul clinic, dar absenţa lor nu-l poate infirma, deoarece uneori bacilii nu pot fi găsiţi în frotiuri, deşi animalul este bolnav de paratuberculoză. Kujumgiev (1951) constată într-o asemenea cercetare, că din animalele care reacţionau alergic numai 1 avea bacili în fecale; din 32 de animale care au dat reacţii alergice dubioase, la 8 s-au găsit bacili în fecale; din 42 de animale care nu au reacţionat la alergenul specific, 2 conţineau bacili în fecale. Valoarea de diagnostic a examenului bacterioscopic al fecalelor ca şi a probei alergice pare, după aceste date, destul de relativă.

Probele alergice de diagnostic, cu extracte din culturi de bacili paratuberculoşi, extracte cunoscute şi sub numele johnină sau paratuberculină sînt folosite şi dau, în general, rezultatele cele mai satisfăcătoare. Trebuie însă să se ţină seama că animalele cu infecţii paratuberculoase reacţionează şi la tuberculină, şi invers, cele tuberculoase reacţionează şi la johnină. Valoarea de diagnostic a reacţiei alergice este mai mare în ţările sau regiunile indemne de tuberculoză şi unde orice reacţie la alergenul specific este foarte probabil în legătură cu o infecţie paratuberculoasă. Ceea ce de asemenea reduce valoarea de diagnostic a reacţiei alergice este şi faptul observat, destul de frecvent, că animalele deşi infectate nu reacţionează la alergen, aceasta fie din cauză că starea alergică nu s-a instalat (prima perioadă a infecţiei, uneori foarte lungă), fie că ea a dispărut (perioada de anergie). Stările anergice există destul de frecvent în paratuberculoză, mult mai frecvent ca în tuberculoză şi ele sînt legate atît de evoluţia bolii, cît şi de starea generală a animalului.

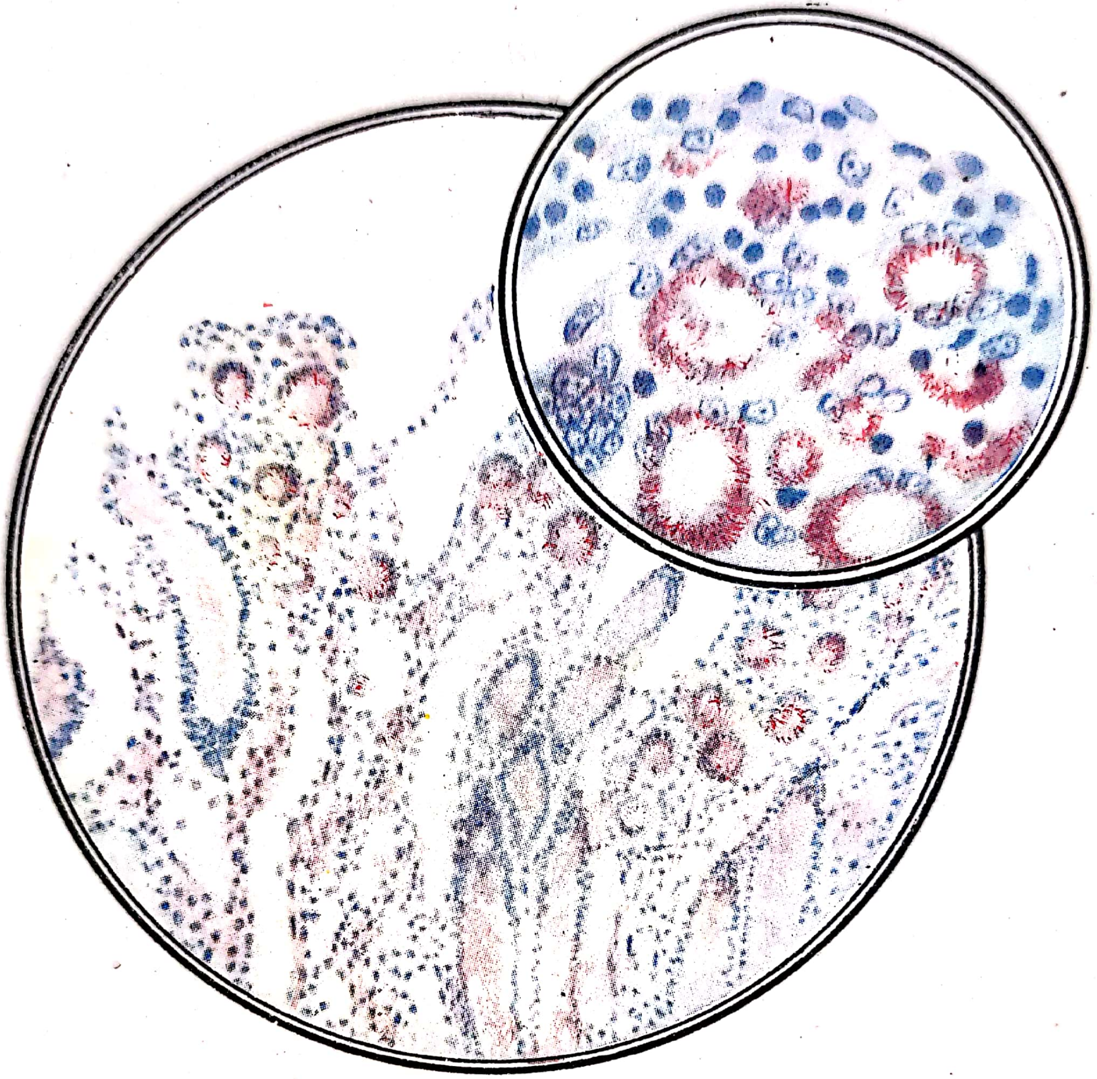
Paratuberculina sau johnina, preparatul folosit în diagnosticul alergic, este fie o suspensie omogenă de bacili ai paratuberculozei, sterilizată printr-o încălzire de 30 de minute la 62°C, fie o cultură de 10 săptămîni pe mediu Sauton, redusă, prin evaporare, la 1/10 din volumul iniţial. Preparatul, inoculat pe cale subcutană, în doză de 1—2 ml, produce după 6—7 ore o reacţie termică — 1—1,5°C peste normal. Pe cale intradermică, el provoacă o reacţie inflamatorie locală. Proba intradermică dă rezultate mai bune ca proba subcutană. Criteriile de apreciere a reacţiei, în cazul cînd injectarea paratuberculinei s-a făcut pe cale intradermică, sînt, în general, cele care se aplică şi în diagnosticul tuberculozei. O îngroşare a pielii mai mare de 7 mm este considerată ca o reacţie pozitivă, una de 5—7 mm dubioasă şi sub 5 mm negativă.

Paratuberculina poate fi înlocuită cu tuberculina aviară, care, după Bobaşinski, citat de Strogov (1953), ar da rezultate chiar mai bune ca paratuberculina. Unele tulpini aviare ar da o substanţă revelatorie mai bună, alte tulpini mai slabă; de aceea, înainte de a trece la prepararea tuberculinei aviare, pentru utilizarea în diagnosticul paratuberculozei, este bine să se facă o selecţie a tulpinilor.

Serul animalelor infectate conţine anticorpi care aglutinează globulele roşii sensibilizate printr-un derivat proteic extras din johnină. Titrul pozitiv

IAŞI

PLANŞA X



Secţiune prin intestin de bou mort cu simptome şi leziuni de paratuberculoză

Se observă numeroşi bacili incluşi în macrofage

Coloraţie: Ziehl (desen: *Cerni*)

este socotit de 1/32 sau mai mult. Serul animalelor tuberculoase aglutinează şi el asemenea globule, la titruri asemănătoare, însă formează grămezi mai mari de globule roşii.

Profilaxie. Enterita paratuberculoasă este o boală contagioasă şi în consecinţă izolarea animalelor bolnave este prima şi cea mai eficace măsură profilactică. Crearea fermelor de izolare, pentru exploatarea animalelor infectate, poate fi recomandată în regiunile în care boala este foarte răspîndită şi unde în consecinţă, nu se poate recurge la măsura profilactică cea mai eficace, anume la sacrificarea animalelor bolnave. Imunizarea activă, încercată de unii experimentatori, nu a dat rezultate pozitive, deşi principial un vaccin preparat cu germenii vii ar putea crea o stare de imunitate (Strogov, 1953).

Tratament. S-au încercat, în scopul de a vindeca paratuberculoza, numeroase preparate antidiareice: sulfat de fier, tanoform, creolină, ihtiol, esenţă de terebentină etc., dar rezultatele au fost rar satisfăcătoare. Streptomicina, care este bacteriostatică in vitro, în doză de 2 gama pe 1 ml, este puţin activă in vivo (Bernaille, 1952). Doze de 3 g zilnic, administrate timp de 7 zile, duc la negativarea reacţiei faţă de johnină, la amendarea simptomelor clinice, dar nu la dispariţia bacililor din materiile fecale. Acidul paraaminosalicilic (P.A.S.) este bacteriostatic, in vitro, în doză de 500 gama pe 1 ml. Nu se cunoaşte acţiunea sa în vivo. Gainulin (1955) obţine negativarea reacţiei la un procent important de animale, în urma tratării lor cu sulfatiazol şi disulfan. Animalele cu simptome clinice nu beneficiază însă de această terapeutică, ci numai cele cu forme asimptomatice, dar cu reacţii alergice pozitive. Tratamentul durează 5—20 de zile şi este însoţit de o alimentaţie bogată în special în vitamine. Goret şi colaboratorii (1956) obţin rezultate apreciabile (8 vindecări clinice, dar nu bacteriologice, pentru 13 animale tratate) cu sulfone (diaminodifenilsulfona) administrate per os (10—15 g pe zi, timp de 10 zile). Recidivele, în cazul acestui tratament, nu sînt excluse; în plus, animalele a căror stare generală s-a ameliorat în urma tratamentului rămîn de regulă purtătoare şi excretoare de germeni; ele nu pot fi deci exploatate decît în ferme infectate şi nu pot fi vîndute decît pentru măcelărie.

În condiţii experimentale, la şoareci, Levaditi şi colaboratorii (1953) obţin vindecări cu izonicotinhidrazidă (I.N.H.). Preparatul nu a dat însă rezultate pozitive la bovine (Goret şi col. 1956). Rezultatul tratamentului cu unul din produsele active existente depinde de momentul aplicării sale. În stadiul preclinic se pot obţine unele rezultate, în sensul ca leziunile existente în loc să evolueze, regresează. În stadiul clinic, toate medicaţiile cunoscute s-au arătat inoperante. Aceste date arată importanţa diagnosticului precoce al infecţiei, ceea ce nu se poate realiza decît prin bacterioscopia materiilor fecale şi probe alergice.

BIBLIOGRAFIE

BERNAILLE M. — Incercări de tratamente noi în enterita cronică hipertrofiantă a bovideelor. *Teză.* Alfort, Paris, 1952.
BOQUET A. — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 219

BOQUET A. — Asupra bacilului enteritei paratuberculoase a bovideelor. *Ann. Inst. Pasteur,* 1928, 42, p. 495.

DOROFEEV A. K. şi KOLACEV — Enterita paratuberculoasă la oaie şi animale sălbatice. *Veterinaria,* 1949, 11, p. 21.

GAINULIN R. T. — Date privind epizootologia enteritei paratuberculoase la vitele cornute mari din R.S.S. Başkiră. *Veterinaria,* 1952, nr. 6, p. 36.

GAINULIN R. T. — Tratamentul bovinelor bolnave de enterită paratuberculoasă. *Veterinaria,* 1955, nr. 11.

GORET P. şi col. — Cercetări privind diagnosticul şi tratamentul maladiei lui Johne la bovidee (sulfoni şi I.N.H.). *Bull. Acad. Vét. France,* 1956, 39, p. 89.

HAUDUROY P. şi SANSONNENS — Tehnica de coloraţie care permite diferenţierea bacililor tuberculozei de bacilii paratuberculoşi. *C. R. Soc. Biol.,* 1943, 137, p. 693.

JAKUNINA M. E. — Paratuberculoza cămilelor. *Veterinaria,* 1954, nr. 4, p. 40.

KUJUMGIEV I. — Cercetări privind originea şi extensiunea paratuberculozei în districtul Samokov (Bulgaria). *Isvestia Mikrobiologhiceskia Institut* 1950, p. 61 şi 1953, 4, p. 73.

KUJUMGIEV I. — Paratuberculoza (maladia lui Johne) la rumergătoarele din Bulgaria. Monografie publicată de Acad. Bulgară de Ştiinţe, Sofia, 1951.

KUJUMGIEV I. — O metodă electivă de coloraţie a M. paratuberculosis, ca o modificare a procedeului aplicat de Hallberg la M. tuberculosis. *Iz. mikrobiol. Institut.* Sofia, 1952, 3, p. 91.

LASLO H. — Enterita paratuberculoasă. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie.* 1929, 41, nr. 9, p. 470.

LEVADITI C. şi CHAIGNEAU-ERHARDT H. — Activitatea curativă a INH în infecţia produsă la şoarece prin tulpina M. paratuberculosis 607. *Ann. Inst. Pasteur,* 1953, 84, p. 633.

MAZZA S. şi NINO F. — *Pensa medica argentina,* 1921, 10 februarie.

MEYN A. — Boala lui Johne. *Off. Inter. des. Epizooties,* 1953, 40, p. 136.

SALAGEANU GH. şi DRĂGHICI D. — Un caz de paratuberculoză la bou. *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1954, nr. 9, p. 72.

STROGOV K. A. — Enterita paratuberculoasă a animalelor domestice. Moscova, 1953.

Mycobacterium leprae (Armauer-Hansen) Lehmann şi Neumann, 1927

Sinonime: *Bacillus leprae* Armauer-Hansen, 1874
Numele obişnuit: bacilul leprei

Germenul a fost descoperit, ca agent al leprei umane, de Hansen, în 1868; lucrarea, privind etiologia leprei, este publicată însă în 1874.

Morfologie. Bacilul se apropie, prin forma şi afinităţile sale tinctoriale, de bacilul tuberculozei; se prezintă, într-adevăr, ca şi acesta din urmă, ca un bastonaş, fin, drept sau uşor încurbat, lung de 1—8 microni şi lat de 0,3—0,5 microni. Prezintă granule cromofile. In leziuni, bacilul este de obicei în grămezi, rareori izolat. În secreția nazală poate fi găsit uneori izolat.

Este imobil și necapsulat.

Gram pozitiv și acidorezistent. Se colorează electiv prin metoda Ziehl-Neelsen sau Hallberg (vezi bacilul tuberculozei).

Cultivarea bacilului leprei nu a reușit pînă în prezent deși s-au făcut, în acest scop, extrem de numeroase încercări. Mulți cercetători au izolat din leproamele umane fie bacili neacidorezistenți de tipul celor difterici, fie bacili acidorezistenți, dar nu s-a putut demonstra rolul lor în determinarea infecției.

Patogenitate. Bacilul leprei nu este patogen pentru animale, nici în condiții experimentale și nici în condiții naturale. Transmiterea la maimuță, prin implantarea unei porțiuni de leprom uman sau prin inoculări mult repetate (pînă la 49 de ori) pare posibilă după Shang-Ho (1955). Spontan, bacilul infectează omul la care produce o boală extrem de gravă, cronică și pînă nu de mult incurabilă, numită *lepră*.

Lepra este cunoscută din antichitate, leagănul ei fiind, după cît se pare, Asia Mică. De aici ea s-a răspîndit peste tot pămîntul. Apare în lumea romană în secolul I dinaintea erei noastre, bîntuie, începînd din secolul al VII-lea și în tot Evul mediu, în Europa occidentală, producînd numeroase victime. Focarele în Europa încep a se rări în epoca modernă, după secolul al XV-lea. În prezent, focarele cele mai intense de lepră se găsesc în Africa ecuatorială (peste cinci cazuri la 1 000 de locuitori). Asia de sud-est și regiunea ecuatorială a Americii de Sud (1—5 cazuri la 1 000), Asia Mică și sudul Americii de Nord (0,1—1 caz la 1 000) etc. În posesiunile engleze din Africa de Sud s-au depistat 75 000 de bolnavi la o populație de 68 milioane. Cazuri sporadice și mici focare există în toate țările europene, precum și în țara noastră. În țările din sudul Europei — Spania, Italia, Grecia — frecvența cazurilor este mai mare totuși ca în țările din Europa centrală și nordică.

Caracterul bolii. Lepra este o boală a adulților și nu se întîlnește decît excepțional la tineri; pare că nu se transmite congenital. Afectează, în condiții egale, bărbați și femei. Se caracterizează clinic printr-o perioadă de incubație sau mai curînd de latență foarte lungă și printr-o evoluție cronică, de ani sau chiar zeci de ani. În perioada de latență, bolnavul nu prezintă tulburări caracteristice; din cînd în cînd el poate suferi de dureri de cap, vertije, dureri reumatismale, astenie, anemie, tulburări digestive, febră, nevralgii, hiperestezii sau anestezii cutanate circumscrise, erupții cutanate etc. toate aceste semne fiind trecătoare. Leziuni caracteristice își fac mai tîrziu apariția și ele constau, de cele mai multe ori, din constituirea, la nivelul pielii (în special pe pielea de pe față) și a mucoaselor și uneori și în organele interne, ficat, splină testicul etc., a unor noduli specifici, cunoscuți sub numele le leproame. Histologic, lepromul este constituit dintr-un amestec de macrofage și fibroblaste; unele macrofage pot avea mai mulți nuclei, fără a constitui însă o celulă gigantă tipică, ca în tuberculom, și conțin mase enorme de bacili. Asemenea celule cu un conținut mare de bacili se găsesc și în paratuberculoza bovideelor (în leziunile de la nivelul intestinului). Lepromul nu se cazeifică.

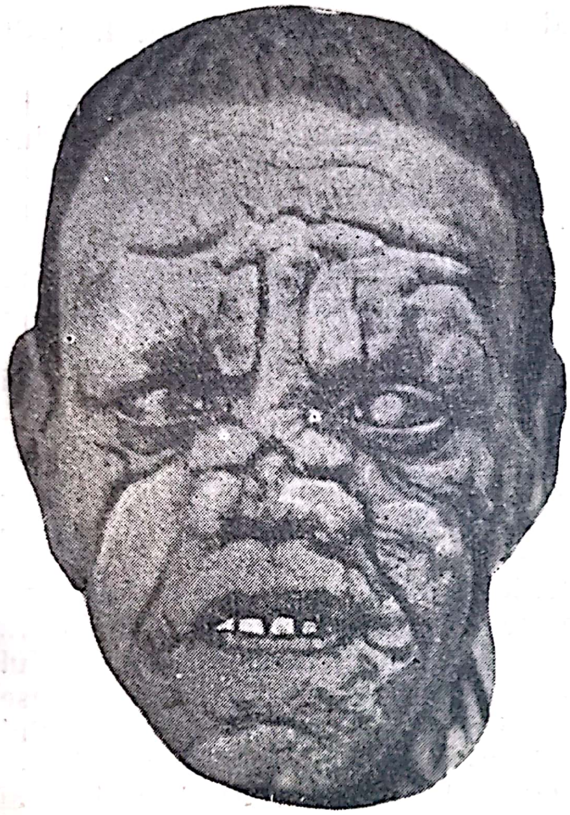


Fig. 105 — Leproame ale feții și cecitate (după Tanon, din Nattan-Larrier, 1931)

Macroscopic, lepromul dermic, care este cel mai caracteristic, apare cel mai frecvent pe față sau membre și se prezintă ca o nodozitate proeminentă, ale cărei dimensiuni variază de la un bob de mei la o alună. Lepromul poate fi izolat sau confluează cu alte formații similare, constituind o placă sau infiltrație leproasă, indurată, de culoare cianotică și cu suprafața neregulată. Regiunea în care se dezvoltă lepromul sau leproamele se deformează, apar tulburări circulatorii, edeme care pot duce, în cazul localizării la membrele inferioare, la elefantiazis. Lepromul se poate ulcera și, în acest caz, la acțiunea patogenă a bacilului leprei, se adaugă germeni de infecție secundară, care complică evoluția procesului. Leproamele pot fi situate și în țesutul hipodermic sau în mucoase; dintre mucoase, cea nazală este cea mai frecvent afectată, producîndu-se o inflamație care, în clinică, se cunoaște sub numele de rinită leproasă. Mucusul nazal conține, în acest caz, numeroși germeni. Alături de leziunile pielii sau mucoaselor și la unii bolnavi, chiar în absența lor, se dezvoltă și o formă nervoasă, care debutează prin hiperestezii și sfîrșește prin anestezie, și amputări spontane de degete și chiar fragmente din membre. În această din urmă fază, bolnavul are o anestezie completă a regiunii. Formele nervoase sînt însoțite de atrofii musculare. Tulburările trofice se întîlnesc frecvent în lepră: bolnavului îi cad dinții, barba, mustățile, parțial, sprîncenele, iar pielea se încrețește. Mutilările — căderea

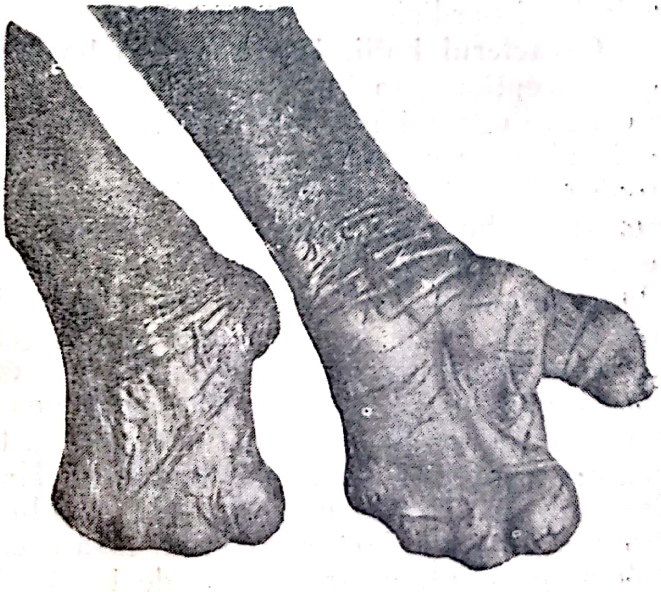


Fig. 106 — Mîini leproase cu leziuni mutilante (după Tanon, din Nattan-Larrier, 1931)

falangelor, a degetelor și chiar a mîinii sau piciorului — pot fi de asemenea rezultatul acțiunii patogene a bacilului leprei. În unele cazuri se observă o resorbție a oaselor de la mînă sau picior, membrul respectiv reducîndu-se, în acest caz, la un bont inform. Asemenea resorbții se pot observa și la oasele nasului.

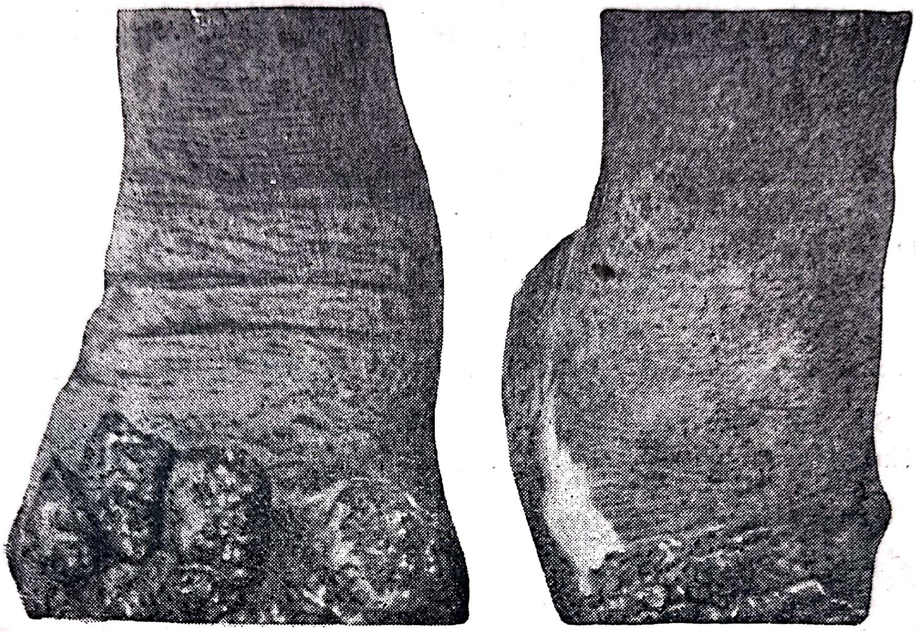


Fig. 107 — Leziuni leproase mutilante ale membrelor inferioare (după Tanon, din Nattan-Larrier, 1931)

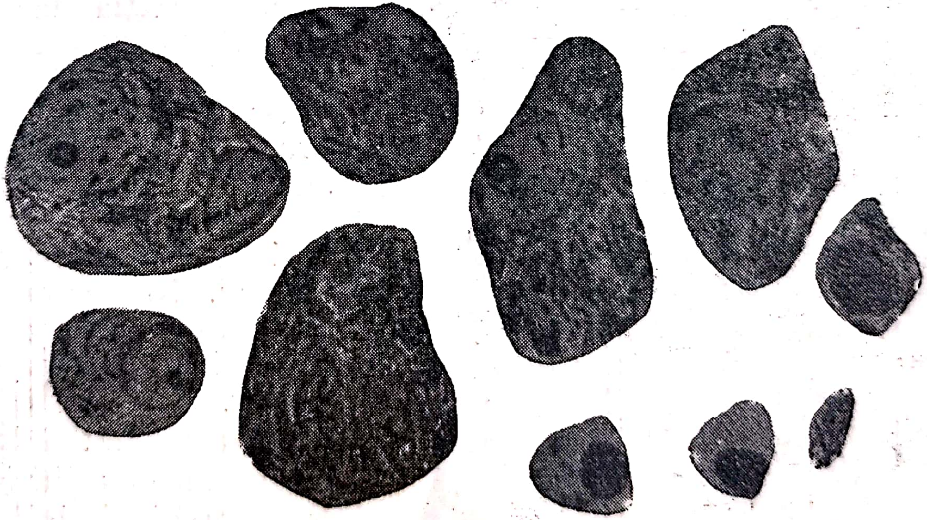


Fig. 108 — Celule leproase dintr-un leprom al pielii (după Philibert, din Nattan-Larrier, 1931)
În citoplasmă se observă mase de bacili

Profilaxie. Lepra este contagioasă, ceea ce reiese atît din cercetările experimentale (de exemplu infectarea personalului de îngrijire), cît și din constatarea că prin izolarea leproșilor și crearea leprozeriilor s-a reușit să se reducă foarte mult, atît în Europa, cît și în alte continente, numărul cazurilor de lepră. Indicația profilatică cea mai de preț este, în consecință, izolarea bolnavului. Un pericol îl constituie bolnavii care se găsesc în faza de latență și care, neputînd fi identificați, pot contribui la răspîndirea bolii.

Lepra o dată cu introducerea în tratamentul ei a sulfonelor: sulfetron etc. a devenit o boală curabilă.

Tratamentul durează însă cîțiva ani.

BIBLIOGRAFIE

SHANG-HO — Studiul experimental privind transmiterea leprei umane la maimuță. *Internat. J. Leprosy,* 1955, 23, p. 48.

Mycobacterium lepraemurium Marchoux și Sorel, 1912

Sinonime: *Bacillus leprae murium* Muir și Henderson, 1927.
Numele comun: bacilul leprei șobolanilor sau bacilul lui Stefanski.

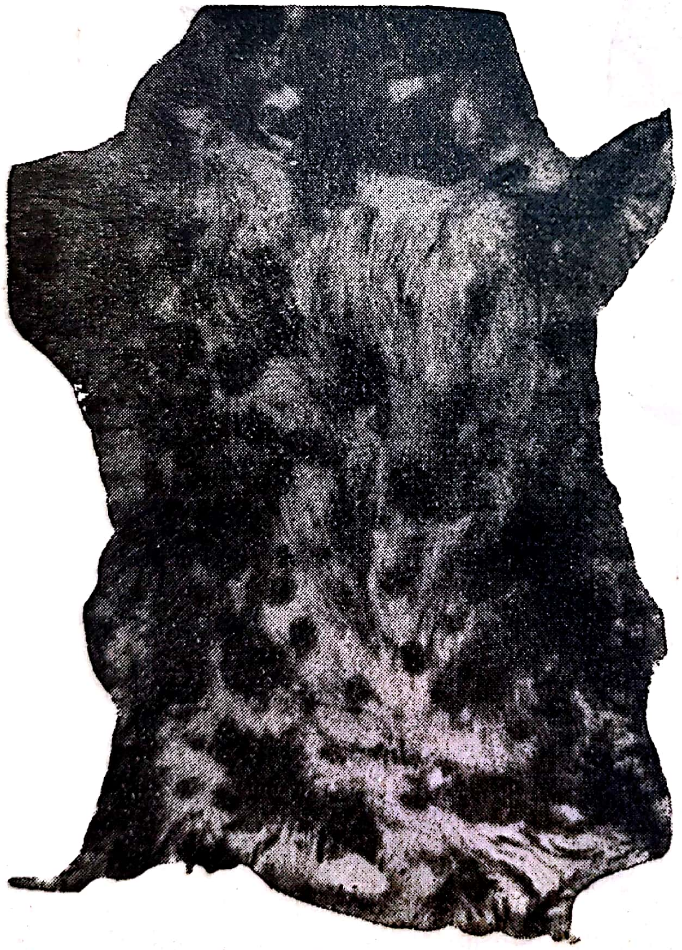


Fig. 109 — **Piele de șobolan cu leziuni de lepră (din Nattan-Larrier, 1931)**

Punctele negre corespund nodulilor leproși

Această specie acidorezistentă a fost identificată de Stefanski, în 1903, în leziunile de tip lepromatos de la șobolani și numită de autor „Bacillus der Rattenlepra". Cercetările ulterioare au identificat infecția la șobolanii gri *(Rattus norvegicus)*, capturați în special în marile orașe ca Berlin, Paris, Londra, Odesa, San Francisco și altele.

Germenul se prezintă ca un bastonaș fin, lung de 3—5 microni. Nu formează spori sau capsule. Este imobil.

Acidorezistent și Gram pozitiv.

Nu a putut fi încă cultivat pe medii artificiale, ceea ce îl apropie de bacilul leprei umane.

În condiții experimentale, infecția se transmite, cu triturate de leziuni inoculate pe cale subcutană sau intradermică eventual prin scarificație, la șobolani gri sau albi, precum și la unele linii de șoareci, dar nu la cobai, iepure sau maimuță. Infecția spontană este întîlnită numai la șobolanii sălbatici și se manifestă prin constituirea unor noduli în piele, mușchi, ganglionii limfatici și mai rar în pulmon. În dreptul nodulilor cutanați se poate produce căderea părului și eventual pielea se ulcerează.

În leziuni se găsesc numeroși bacili, care nu constituie însă grămezi asemănătoare celor întîlnite în leproamele umane sau în leziunile de paratuberculoză a bovideelor.

BIBLIOGRAFIE

MARCHOUX și SOREL — *Ann. Inst. Pasteur,* 1912, 26, p. 700.
STEFANSKI — *Zbl. f. Bakt. O.,* 1903, 33, p. 481.

Mycobacterium piscium Bergey et al, 1923

Sinonime: *Bacillus tuberculosis piscium* Dubard, 1897

Bacilul a fost descris de Dubard în 1897, și socotit ca patogen pentru pești, broaște și șopîrle, la care ar produce o infecție de tipul tuberculozei. Nu se poate spune întrucît această afirmație corespunde realității, dat fiind că, în general, animalele citate sînt purtătoare de bacili acidorezistenți.

Bacilul se prezintă ca un bastonaș imobil, neîncapsulat, Gram pozitiv și aciderozistent. Se dezvoltă pe suprafața agarului, producînd colonii albe, umede, circulare, cu marginile neregulate și cu suprafața granulată. Se dezvoltă pe cartof glicerinat, dînd o cultură abundentă după o incubație de cîteva zile; în cazul cînd incubația s-a făcut la 20—30°C cultura este umedă, grasă și dimpotrivă, ea este uscată, cerebriformă, cînd incubația s-a făcut la 37°C.

Se conservă pînă la 1 an în mediile de cultură.

Inoculat în cantități mari, în cavitatea generală la pești, broaște, șerpi, șopîrle, produce o infecție mortală în cîteva zile; în condiții egale, dar în doze mai mici, provoacă o infecție cu evoluție cronică — cîteva săptămîni — la autopsie găsindu-se numeroși noduli în organele interne.

Bacilul este nepatogen pentru animalele cu sînge cald.

După Bergey (1948), *Mycobacterium piscium* este mult apropiat de următorii germeni descriși de diverși autori ca specii aparte, și anume: *M. marinum* Aronson, 1926, *M. ranae* Küster, 1905, *M. thamnopheos* Aronson, 1929 și *M. friedmannii* (Friedmann, 1903).

Este probabil, după Bergey, că toți acești germeni reprezintă una și aceeași specie. Ei au următoarele caractere comune:

nu rezistă 1 oră la 60°C;

nu cresc la 47°C;

nu atacă sorbita (excepție face *M. friedmannii*); se găsesc ca saprofiți sau paraziți la animale cu sînge rece: cresc repede pe mediile de cultură.

BIBLIOGRAFIE

ARONSON — *J. Inf. Dis.*, 1926, 39, p. 315 și 1929, 44, p. 222.
BATAILLON, DUBARD și TERRE — Un nou tip de tuberculoză. *C. R. Soc. Biol.*, 1897. 4, p. 446.
DUBARD — *Bull. Acad. Méd. Paris*, 1897, 38, p. 580.
DUBARD — Tuberculoza animalelor cu sînge rece. *Rev. de la tuberculose*, 1898, p. 13.
FRIEDMANN — *Zbl. f. Bakt.*, 1903, 34, p. 647.
KÜSTER — *Münch, Med. Wsch.*, 1905, 5, p. 57.

Mycobacterium phlei Lehmann și Neumann, 1899

Sinonime: bacilul lui Thimothee sau bacilul ierbii (Gras-bacillus).
Numele uzual: bacilul fleolei

Bacilul a fost izolat de Moeller, în 1898, de pe ierburi de cîmp (*Bromus erectus*, *Alopecurus pratensis*) care erau încadrate atunci în genul *Phleum*, de unde numele de bacilul fleolei.

Se prezintă ca un bastonaș fin, lung de 1—4 microni, lat de 0,2—0,5 microni. Acidorezistent și Gram pozitiv.

Se dezvoltă pe medii obișnuite. Astfel, în bulion produce o tulburare uniformă și la suprafață o peliculă colorată în galben-portocaliu. Pe agar produce o cultură uscată, încrețită, pigmentată în galben-portocaliu. Pe cartof dă o cultură uscată, aderentă, de culoare galbenă.

Temperatura optimă este 37°C; dar crește la temperaturi cuprinse între 20 și 58°C. Bacilul nu a fost găsit ca parazit; inoculat în doze mari (10 mg) la cobai, mai ales în amestec cu unt și pe cale intraperitoneală, produce moartea animalului cu leziuni nodulare în ganglioni limfatici și organele interne (Rabinowitch, 1897, Voiculescu, 1939). Pe cale subcutanată, doza de 50 mg de bacili, încorporată în 5 ml de unt, produce un abces mare local și uneori mici moduli, în pulmon și ficat (Voiculescu, 1939).

BIBLIOGRAFIE

MOELLER D. — *Med. Wschr.*, 1898, 24, p. 376.
RABINOWITCH L. — *Deutsche Med. Wschr.*, 1897, p. 507.
VOICULESCU TH. — Acțiunea patogenă a bacilului lui Thimothee încorporat în unt *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 13, p. 1448.

Mycobacterium smegmatis (Trevisan) Chester, 1901

Bacilul a fost izolat de Alvarez și Tavel, în 1885, din smegma umană, precum și din alte produse, ca urină, salivă, cerumen.

Este un acidorezistent, neciliat, nesporulat și Gram pozitiv. Se cultivă pe medii cu glicerină. El produce o membrană la suprafața bulionului glicerinat, precum și o ușoară tulburare a mediului. Pe agar glicerinat, ca și pe cartof glicerinat, formează o cultură abundentă, uscată și de culoare gri.

BIBLIOGRAFIE

ALVAREZ și TAVEL — *Arch. Phys. norm. et Path.*, 1885, 6, p. 303.

SUBGRUPA BACTERIILOR SPORULATE ȘI GRAM POZITIVE

În această subgrupă se găsesc două genuri, și anume:

1. genul *Bacillus*
2. genul *Clostridium*

Genul *Bacillus*

Acest gen cuprinde speciile aerobe, sporulate și care se găsesc de regulă în sol. Genul cuprinde numeroase specii, din care numai două sînt patogene pentru animale, și anume:

1. *Bac. anthracis*
2. *Bac. larvae*

Bacillus anthracis Cohn, 1872

Sinonime: Bactéridie des charbon Pasteur și Joubert, 1877. *Bacterium anthracis* Zopf, 1884. *Pollendera anthracis* Trevisan, 1884.
Numele comun: bacilul antraxului sau cărbunelui *(Anthrax)*

Bacillus anthracis, bacteridia sau bacilul cărbunelui produce la animale și om o infecție cu caracter septicemic și evoluție acută. Boala, numită antrax sau cărbune, este cunoscută încă din antichitate și a fost descrisă de filozofii, istoricii și poeții vremii ca Moise, Homer, Virgiliu etc.

Studiul sistematic și științific al bolii începe în secolul al XIX-lea. Primele cercetări experimentale făcute de Eilert (1836) demonstrează, de exemplu, transmisibilitatea bolii. Eilert a arătat că infecția se transmite cu regularitate prin introducerea materialului infecțios parenteral și, mai puțin constant, prin ingestia unui asemenea material. Gerlach (1845) s-a ocupat de rezistența agentului etiologic, necunoscut la acea dată, în cadavre, demonstrînd că acesta se distruge în 6 zile în cursul verii, dar mult mai încet în timpul iernii. Tot el a constatat că solul, în care a fost îngropat un cadavru cărbunos, rămîne virulent timp de cel puțin 3 ani.

Agentul infecției nu a putut fi descoperit decît tîrziu după descrierea bolii, și anume, în 1849, de Brauell în Rusia și de Pollender în Germania. Un an mai tîrziu, în 1850, Rayer în colaborare cu Davaine, în Franța, transmit boala cu sînge recoltat de la oi moarte cu simptome și leziuni de antrax, observînd că în acest sînge se găsesc formații bacilare[1].

Davaine (1864), pe baza unor minuțioase cercetări experimentale merge mai departe și afirmă că există relații între infecția cărbunoasă și prezența acestor formații în sînge, stabilind că numai sîngele animalelor moarte de cărbune conține filamentele caracteristice, că numai un asemenea sînge este infecțios pentru iepure și șobolanul alb.

Cercetările de mai tîrziu au completat cunoștințele noastre asupra morfologiei și biologiei agentului etiologic al antraxului. Astfel, Koch, pe de o parte, și Pasteur, pe de altă parte, obțin, în 1876, culturi pure de *Bac. anthracis*. Independent unul de altul, ei arată că acești germeni, întreținuți mult timp pe medii de cultură, reproduc boala în aceleași condiții ca și sîngele cărbunos; aceste cercetări lămuresc complet etiologia infecției, înlăturînd definitiv unele obiecții după care elemente invizibile de tip virotic (Paul Bert, 1876—1877) și nu formele observate în sînge ar fi cauza bolii. Mai departe, Koch constată, în 1876, că formele bacilare se pot transforma în spori și că aceștia se pot conserva un timp îndelungat în mediul extern. De aici, dacă condițiile sînt favorabile, ei pătrund în organismele sensibile, unde se înmulțesc provocînd infecția. Pasteur, împreună cu Joubert, se ocupă de circulația sporilor în și la suprafața solului. Pasteur arată, tot împreună cu Joubert (1877), că bacilii nu sporulează în organismele infectate, dar pe mediile de cultură se transformă în spori. Același cercetător, împreună cu Chamberland și Roux (1881), reușește să atenueze tulpinile virulente de bacili cărbunoși și, în 1881, să imunizeze, cu asemenea tulpini oi și bovine împotriva cărbunelui.

Cercetările asupra bacilului cărbunelui, infecției cărbunoase și prevenției ei au preocupat și pe alți cercetători. Astfel, Țenkovski, încă din 1883, observînd rezultatele nesatisfăcătoare pe care vaccinurile pasteuriene le-au dat în Rusia, ia în studiu această problemă, obține tulpini atenuate de bacili și, folosind glicerina, prepară un vaccin anticărbunos sporulat, stabil și lung timp conservabil. Metoda imaginată de Țenkovski este astăzi universal adoptată.

În țara noastră, dată fiind extinderea și pierderile pe care această boală le provoacă la animale, s-au făcut, în special sub conducerea prof. Riegler, o serie de cercetări privind patogenitatea antraxului, valoarea diverselor procedee de vaccinare, biologia bacilului cărbunos, etc. In aceste cercetări, se încadrează și lucrările lui Stamatin, care, studiind biologia bacilului, reușește să obțină variante nevirulente, dar imunizante, de bacili. Plecînd de la aceste variante, Isopescu a pus la punct prepararea unui vaccin anticărbunos care se arată superior tuturor vaccinurilor obținute pînă în prezent.

---

[1] Rayer scrie (*C. R. Soc. Biol.*, 1850 (1851), II, p. 141—144) „Il y avait en outre dans le sang de petits corps filiformes, ayant environ le double en longueur du globule sanguin. Ces petits corps n'offrayent point de mouvement spontané".

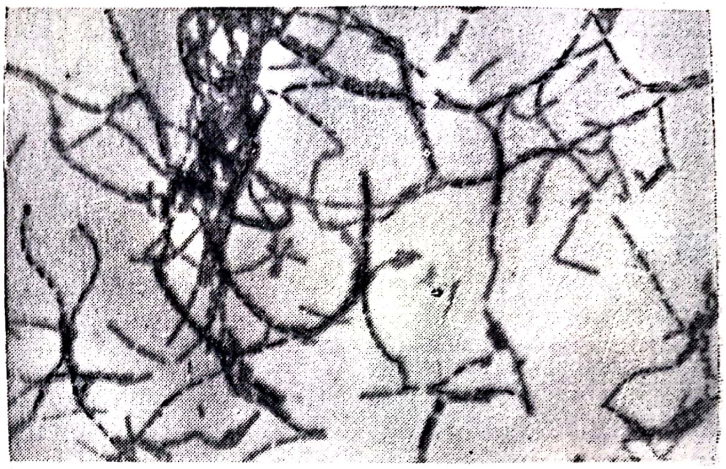


Fig. 110 — Bacillus anthracis

Frotiu din cultură în bulion. Colorație: Gram

Caractere morfologice. Bacilul cărbunos este considerat ca un germen polimorf. Totuși, în culturile tinere ale tulpinilor proaspăt izolate bacilii prezintă o accentuată uniformitate; ei se prezintă, în asemenea culturi, sub forma de bastonașe lungi de 4-6 microni, late de 1—1,25 microni, avînd o formă geometrică aproape perfectă; alături de aceste elemente, apar de obicei la capătul lanțurilor forme mari, umflate, fuziforme, asemănătoare gonidangiilor întîlnite la ciuperci. Pe măsură ce cultura se învechește, germenii pierd uniformitatea, și, într-un frotiu dintr-o asemenea cultură, se întîlnesc numeroși spori, resturi celulare și bacterii, care îmbracă cele mai variate forme: bacili subțiri, lungi, scurți, forme rotunde, forme în biscuit etc., toate avînd o afinitte pronunțată pentru soluțiile colorate. În coloniile fiice, polimorfismul bacterian este încă și mai accentuat ca în coloniile primare.

Tulpinile care au suferit numeroase treceri pe mediile de cultură, în special pe medii dizgenetice, își pot modifica modul de grupare și aspectul morfologic. Germenii nu se mai așază în lanțuri lungi, ci sînt izolați, iar capetele nu mai sînt tăiate drept, ci convex. În organele animalelor infectate spontan, bacilii sînt izolați sau grupați în lanțuri scurte și sînt toți încapsulați; capsula are marginile drepte sau ușor ondulate.

Bacilul cărbunelui este lipsit de cili, deci este imobil. Formează spori și, în anumite condiții, se încapsulează.

Gram pozitiv. Se decolorează totuși cu ușurință și, adeseori, în frotiurile din culturi mai vechi, se întîlnesc elemente Gram pozitive și elemente Gram negative.

Sporogeneza. *Bacillus anthracis* face parte din grupa bacililor sporulați și, în consecință, forma sa vegetativă, poate genera spori. Sporul se formează în centrul formei vegetative. El are o formă ovoidală și măsoară 1,3—1,5 microni lungime și 0,8—1 microni lățime. Se colorează uniform prin diverse metode speciale. Colorația cu fuscină la cald dă rezultate bune. Metodele obișnuite: Gram, albastru de metilen îi pot colora limitele exterioare și atunci apare ca o vacuolă elipsoidală.

Formele vegetative se dezintegrează după formarea sporului.

Sporii, puși în medii favorabile de cultură sau inoculați animalelor sensibile, dau naștere la bacili. Această generare este precedată de absorbția de apă, mărirea volumului, rotunjirea formei și pierderea luciului; forma vegetativă iese din spor pe la unul din poli; bacilul rezultat rămîne un timp legat de membrana sporului.

Viteza de apariție a formelor vegetative din spori este în funcție de temperatură și de vechimea sporului. Germinarea sporilor de curînd formați se face în 60—90 de minute, la o temperatură de 37°C, iar a sporilor vechi, la aceeași temperatură, în 2—7 ore. La temperaturi mai joase, germinarea se face într-un timp mai lung, dar ea se poate realiza, după unele cercetări, chiar la 0°C. Dintr-o formă vegetativă rezultă un singur spor și dintr-un spor rezultă o singură celulă bacteriană; sporul nu este deci un mijloc de înmulțire a speciei, ci o formă de conservare.

Sporularea formelor vegetative este condiționată de o serie de factori: unii interni, depinzînd de tulpină, alții externi, depinzînd de mediu. Factorii interni influențează incontestabil aceste fenomene. Se constată, într-adevăr, că în aceleași condiții de mediu diverse tulpini de bacilul cărbunelui se comportă diferit: unele sporulează intens, altele puțin, foarte puțin sau de loc. Factorii externi au și ei o influență hotărîtoare în procesul de sporulare. Astfel, se constată că aceeași tulpină sporulează mai bine pe suprafața mediilor solide decît în medii lichide. În general, cu cît mediul solid este mai uscat și mai bine aerat, cu atît sporularea este mai energică. Mediile mai sărace în principi nutritivi, agar nutritiv, cu 0,2% peptonă, favorizează sporogeneza mai mult decît mediile bogate (agar nutritiv cu 1% peptonă). pH-ul optim sporulării variază, așa cum au arătat numeroși cercetători, de la o tulpină la alta; pentru unele tulpini, sporogeneza se efectuează, în condiții optime, la un pH ușor alcalin, 7,2—7,4, pentru altele la o reacție net alcalină, 7,8—8.

Temperatura optimă de sporulare este de 30—37°C; cu cît temperatura scade, cu atît viteza de sporulare a formelor vegetative se micșorează, iar la 14°C acest proces nu se mai face. Pasteur a studiat, în 1881, influența temperaturii asupra sporogenezei, cu ocazia cercetărilor sale asupra posibilităților de atenuare a bacteridiei. El a constatat că la 16°C într-o cultură în bulion primii spori apar după o incubație de 1 lună de zile. Ei apar din ce în ce mai repede, pe măsură ce ne apropiem de temperatura optimă, pentru ca atunci, cînd depășim, în sens contrar, acest optim, timpul de apariție a sporilor să se prelungească din nou, iar la 42—43°C sporularea să înceteze cu desăvîrșire. Germenii, la temperatura de 42—43°C mor după o incubație de cîteva săptămîni, dar nu sporulează. Această constatare, precum și aceea că bacilii nu sporulează în cadavrele animalelor moarte de cărbune, ne arată că sporularea nu se realizează totdeauna sub influența unor factori defavorabili de mediu. Procesul de sporulare apare ca un terminus al unei evoluții. El se face brusc într-o cultură și apare ca o transformare calitativă, ca o urmare a unor modificări cantitative pe care formele vegetative le-au acumulat în cursul diviziunii lor. Sporogeneza nu se efectuează în absența oxigenului liber; este foarte probabil că, din cauza absenței acestui gaz, sporularea bacteridiei nu se face în cadavrele animalelor infectate. Bacteridia sporulează însă cînd sîngele vine în contact cu oxigenul atmosferic.

Bacilii din sînge sau din organele infectate sporulează cînd lichidele care îi conțin sînt răspîndite în strat subțire pe diverse obiecte. Uscarea lichidului nu împiedică procesul. Se constată, într-adevăr, că punînd o picătură de pulpă splenică cărbunoasă sau sînge virulent pe o sugativă, bacilii sporulează, deși materialul s-a uscat în mai puțin de 1 minut. Spo rularea se face și în materialul pus pe lame în vederea colorării, și de aceea, în laboratoarele de diagnostic, pentru a evita infecțiile umane este necesar ca asemenea lame să fie fixate imediat după facerea frotiului, în condiții care să asigure distrugerea germenilor. În natură, sporularea în materialul infectat uscat și răspîndit în straturi subțiri este mult mai activă decît în organele voluminoase și în lichide, în care intervin procese de putrefacție. Formele vegetative conținute în capilarele pielii generează spori, probabil, în mai bune condiții după jupuirea pielii decît înainte. Sporularea în piele se face numai în cazul cînd condițiile de temperatură, aerație, etc. sînt convenabile (Ciucă și Stoicescu, 1909).

Unele substanțe, cum sînt cazeina, zeama de lămîie sau de roșii, precum și acidul ascorbic, adăugate agarului nutritiv, favorizează în mod evident sporularea bacililor cărbunoși (Isopescu).

Prezența altor substanțe în mediul de cultură poate avea o acțiune inhibitoare asupra sporogenezei. Se constată, astfel că în mediile în care se adaugă Cl_2Ca sporularea este inhibată. Această acțiune inhibitoare este datorită ionilor de Ca. Eliminînd într-adevăr, ionii de calciu dintr-un mediu, se obține o sporulare energică a germenilor (Bordet și col., 1930).

Variante asporogene. Tulpinile izolate din infecțiile naturale sînt aproape fără nici o excepție sporogene. Se citează un singur caz de infecție spontană la vacă, produsă de o tulpină asporogenă. În laborator însă s-au putut obține ușor din tulpini sporogene variante care au pierdut această însușire. S-au folosit, în acest scop, diverse medii de cultură. Astfel, se pot obține variante asporogene cultivînd tulpinile sporogene în gelatină acidă sau alcalină, (Lehmann, 1887) sau în gelatină care conține diverse substanțe, ca: safranină, verde malachit, tinctură de turnesol. Aceleași rezultate se obțin prin cultivarea în bulion cu bicromat de potasiu 1/2000 (Chamberland și Roux, 1883), cu fenol, sau în ser de cal, oaie, bou sau pe agar cu glicerină etc. Cultivarea pe agar glicerinat este procedeul cel mai frecvent folosit in scopul de a obține variante asporogene.

Preisz, 1904, Bordet și Renaux, 1930, Stamatin, 1935, au arătat în plus, că se pot obține, în mod rapid variante asporogene făcînd însămînțări pe agar din coloniile buton, care se dezvoltă la suprafața coloniilor primare. Coloniile care se dezvoltă pe agar și care conțin germeni asporogeni se deosebesc cultural de cele constituite din germeni sporogeni. Se pare că pe mediile obișnuite apar în mod curent variante asporogene și unii cercetători afirmă că, în culturile de bacili cărbunoși, se găsesc de regulă germeni sporogeni și asporogeni, și că folosind metode simple de laborator se poate izola una sau alta din cele două variante. Astfel, prin încălzirea unei tulpini mixte la 70—90°C se obțin variante cu un potențial sporogenetic foarte mare, iar prin treceri făcute la intervale scurte de timp se obțin, din aceeași tulpină, variante asporogene. Izolarea variantei asporogene prin treceri frecvente se explică astfel: germenii sporogeni apar mai tîrziu în cultură, ei neputîndu-se înmulți decît după ce sporul s-a transformat în forme vegetative, iar bacilii asporogeni, în timpul necesar transformării sporului în forma vegetativă, se divid, ceea ce face ca de la o trecere la alta să devină mai numeroși și în cele din urmă să fie singuri transplantați pe mediul proaspăt.

Apariţia variantelor asporogene este un fenomen curent în culturile menţinute în laborator şi izolarea unor asemenea variante nu reprezintă numai un proces de selecţie. Takahashi (1938), de exemplu, izolează tulpini asporogene plecînd de la un singur germen izolat cu micromanipulatorul.

Caractere culturale. Bacilul cărbunelui este aerob şi se cultivă pe mediile obişnuite de cultură. Temperatura optimă de dezvoltare este cuprinsă între 30 şi 40°C; nu se înmulţeşte la temperaturi mai mici ca 14°C şi mai mari de 43°C. În jurul limitei inferioare şi superioare bacilii, deşi se divid, nu sporulează.

Preferă mediile uşor alcaline, cu pH = 7,4 — 8,3 suportînd însă variaţii importante de la pH = 6 la pH = 8,5.

În mediile lichide — bulion — aspectul cultural este variabil. Germenii, însămînţaţi direct din organele animalelor spontan infectate, dau o cultruă caracteristică; ei constituie în 24 de ore un sediment floconos, greu omogenizabil, mediul rămînînd perfect limpede. Prin învechire, la suprafaţa mediului, se formează flocoane de cultură care aderă, într-o mică măsură, de pereţii tubului; flocoanele, cu timpul, devin grele şi cad, sub formă de inele, la fundul tubului. Pe agar, coloniile formate de germenii recent izolaţi sînt caracteristice; ele au o suprafaţă aspră, iar marginile coloniei prezintă prelungiri laterale, cu terminaţii efilate, subţiri.

La microscop, coloniile prezintă valuri caracteristice de păr frezat, iar prelungirile laterale se termină cu un fir subţire, ondulat. În gelatină, la o temperatură de 18—20°C germenii dau o cultură vizibilă după 2—3 zile. Coloniile prezintă aceleaşi prelungiri laterale ca şi pe agar.

Bacilul cărbunelui creşte pe cartof, dar nu sporulează decît tîrziu şi în măsură redusă. Creşte în lapte. Acest mediu, după o incubaţie de cîteva zile la 37°C, devine mai limpede şi se colorează gălbui; cu timpul, laptele se separă în două straturi unul superior constituit din grăsime, altul inferior din zer. După 6 luni la 37°C, mediul devine brun, densitatea lui se reduce. El conţine cantităţi apreciabile de amoniac (Perdrix, 1888).

Tulpinile menţinute în laborator şi mai ales cele supuse influenţei unor factori dizgenetici îşi modifică caracterele culturale. Ele pot să tulbure uniform bulionul, constituind însă-şi un depozit, de regulă, uşor omogenizabil. Pe geloză, ele pot să dea colonii rotunde, lipsite de prelungiri laterale. Aspectul coloniilor pe agar, la tulpinile de laborator este foarte polimorf (Nungester, 1929, Stamatin, 1931, 1934, 1935, Schaefer, 1936, Sterne 1938, Stamatescu şi Sturza, 1940, Kujumgiev şi Neftianova, 1940 etc).

Bacilul se dezvoltă pe ser coagulat şi Schaefer (1936) observă că acest mediu permite să se deosebească bacilii virulenţi de cei lipsiţi de patogenitate; primii se încapsulează pe acest mediu, dînd naştere unor colonii bombate, mucoase, lucitoare, în timp ce ultimii fiind lipsiţi de capsulă formează colonii plate şi aspre. Folosind serul coagulat, se pot deci alege, dintr-o cultură mixtă, germenii patogeni de cei lipsiţi de această însuşire.

Variante mucogene. În culturile atenuate apar uneori variante care produc, pe agarul nutritiv cu reacţie alcalină, colonii bombate, mucoase, difluente. Germenii care constituie asemenea colonii sînt încapsulați ; capsula este de obicei groasă, difluentă ; în colonie, bacilii înoată într-o masă mucoasă. Germenii care se încapsulează pe agar și dau colonii mucoase sînt, de regulă, puțin virulenți. Variante mucogene se pot ușor obține prin cultivarea bacililor virulenți sau atenuați, în sînge defibriant de cal. Bacilii cărbunoși virulenți produc colonii mucoase pe agar cu 10% ser, dacă incubația se face într-o atmosferă bogată în bioxid de carbon (Sterne, 1937).

Colonii secundare și zone litice. Pe suprafața culturilor, rezultate din prima înmulțire a germenilor pe agar, apar, după 2—3 zile, la termostat sau la temperatura camerei, diverse formații secundare, numite colonii-fiice sau colonii buton; ele sînt mici și bombate, situate central, sau spre periferia coloniei primare.

Tot pe mediile solide, mai ales în jurul lichidului de condensație a agarului înclinat, apar zone mici rotunde, în care cultura este aparent absentă. Apariția acestor zone litice ar fi datorite acțiunii unor enzime secretate de către bacilii tineri, de-abia ieșiți din spori. Acești germeni ar distruge, prin enzimele lor, formele vegetative mai vechi. Se constată, în general, o strînsă corelație între sporogeneza unei tulpini și apariția zonelor litice. Ele nu apar niciodată în culturile germenilor asporogeni.

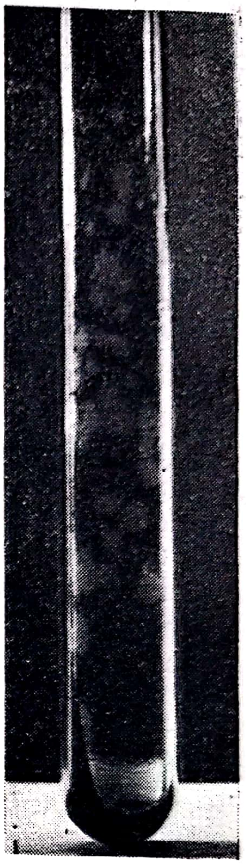


Fig. 111 — Bacillus anthracis

Aspect cultural pe agar înclinat

Proprietăți biochimice. *Bac anthracis,* după unii autori, fermentează repede glucoza și trehaloza, mai puțin repede zaharoza și din ce în ce mai încet maltoza, levuloza, dextroza, amidonul și glicerina (Naplas, 1900). Salicina este inconstant fermentată (Kristensen, 1927). Tulpinile virulente sînt mai puțin active față de amidon, decît cele atenuate. Bacteridia nu atacă eritrita, manita, dulcita, sorbita, ramnoza, d-arabinoza, xiloza, manoza, rafinoza, lactoza, galactoza, inulina și inosita. Pentru a pune în evidență activitatea fermentativă a tulpinilor de cărbune se folosește, în mod obișnuit, un bulion cu următoarea compoziție: extract de carne 1 g, peptonă Witte 1 g, sare 0,5 g, apă 100 ml. Drept indicator se întrebuințează albastrul de bromtimol în proporție de

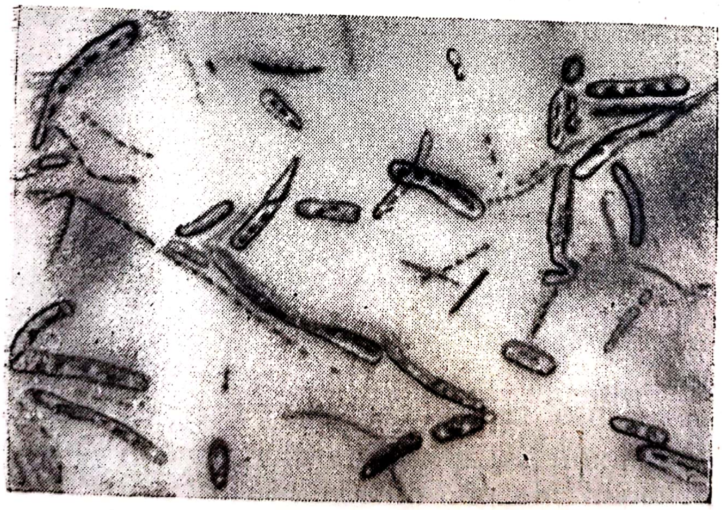


Fig. 112 — Bacillus anthracis

Frotiu din colonie mucogenă. Forme capsulate și necapsulate. Colorație: Legroux

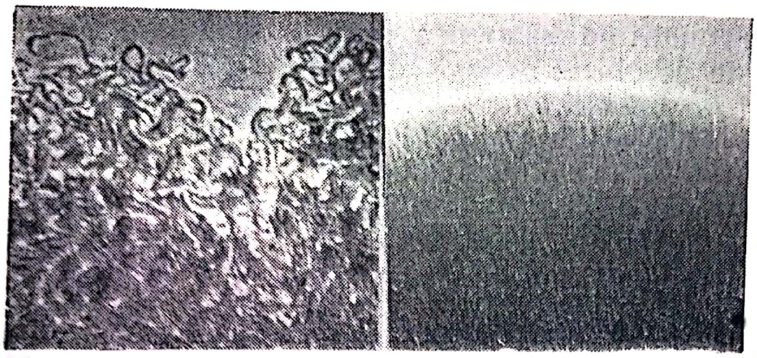


Fig. 113 — Aspectul marginii coloniilor pe agar la *Bacillus anthracis*

stînga — colonie tip R (tulpina 1 190 R); *dreapta* — colonie tip S (tulpina 1 190 Sm)

1/40 000. Soluția de substanță hidrocarbonată se sterilizează prin tindalizare sau filtrare și se adaugă mediului, după sterilizare în proporție de 0,5%. Capacitatea fermentativă față de o substanță hidrocarbonată este mai bine să se determine prin metode chimice (dozarea cantitativă a substanței) decît colorimetrice. Acestea din urmă pot da rezultate false, dat fiind că bacilul este un activ producător de amoniac.

Bacteridia cărbunoasă hemolizează globulele roșii mai încet și mai puțin intens decît bacilii antracoizi. Hemolizine se găsesc și în filtratele cărbunoase și ele sînt active, în special, pentru globulele roșii de om sau iepure.

Bacilul cărbunos precipită cazeina din lapte printr-un labferment propriu; fermenții proteolitici dizolvă, însă, mai tîrziu, coagulul format.

Lichefiază gelatina. Însămînțat prin înțepătură, bacilul se dezvoltă pe linia de însămînțare, mai abundent la suprafață, unde mediul se lichefiază, constituindu-se o cupă, o înfundare în mediu. Activitatea gelatinolitică este mai intensă în mediile alcaline (pH = 8,6) și la tulpinile virulente decît în medii acide și tulpini atenuate. În general, așa cum constată Soru și colaboratorii (1952), activitatea enzimatică este mai mare la tulpinile virulente ca la cele atenuate. Fermentul gelatinolitic se găsește și în filtratele culturilor în bulion (Richou și col., 1954).

Bacilul cărbunelului atacă peptonele, albumozele și proteinele serice; din această dezintegrare rezultă, ca produs final, amoniacul. Cantitatea de amoniac, în culturile în bulion, crește în proporții însemnate în raport cu bulioanele-martor, neînsămînțate. Iată, după Perdrix (1888), care au fost cantitățile de amoniac pentru 100 ml de bulion, în culturi și în bulionul-martor steril în trei serii de experiențe.

	Cultură	Bulion-martor
A =	0,064 g	0,015 g
B =	0,036 g	0,006 g
C =	0,033 g	0,005 g

O parte din amoniacul rezultat din metabolismul bacterian se elimină sub formă de gaz, ceea ce rezultă din constatarea că cifra N-total scade în cultură în raport cu martorul. Reziduul sec este de asemenea mai redus în lichidul în care s-au cultivat bacilii decît în lichidul-martor (Perdrix, 1888).

Bulionul în care s-au cultivat bacilii se alcalinizează, ca o consecință a producției de amoniac.

Bacilul posedă o catalază activă. De asemenea conţine şi o arginază foarte activă. Dintre amidaze se semnalează absenţa ureazei, aspartazei şi asparaginazei. Bacilul produce hidrogen sulfurat în medii bogate în peptone.

Nu conţine triptofanaza (Soru şi col., 1952) şi în consecinţă nu atacă triptofanul şi nu produce indol.

Reduce nitraţii în nitriţi.

Conţine fosfataze acide, neutre şi alcaline, dar pirofosfatazele alcaline sînt cele mai active.

Reduce prontozilul (Kujumgiev, 1938). În comparaţie cu germenii saprofiţi înrudiţi (antracoizi, mezenterici), bacilul cărbunos are o activitate reductoare mai slabă. Saprofiţii, de exemplu, decolorează mediul cu prontozil (0,3 ml de soluţie de prontozil 5% în 4,5 ml de bulion) în 2 zile, în timp ce bacilii cărbunoşi produc decolorarea de-abia după 4 zile. Molnar (1949), folosind un bulion cu o concentraţie mai mare de prontozil (0,6 ml, pentru 6 ml de bulion), observă că bacilii cărbunoşi acapsulogeni şi avirulenţi decolorează mediul în 2—3 zile, în timp ce cei virulenţi şi capsulogeni numai în 6—7 zile. Autorul afirmă că reducerea prontozilului este efectuată numai de bacili necapsulaţi. Intr-adevăr, el constată că o tulpină virulentă, care nu se disociază pe mediile obişnuite în forme necapsulate, nu reducea prontozilul nici chiar după 2 săptămîni, în timp ce tulpinile virulente şi mucogene care-l reduceau în 6—7 zile, se disociau constant şi dădeau forme necapsulate pe mediile obişnuite ca şi în mediile cu prontozil. Activitatea reductoare era datorită, şi în acest ultim caz, tot formelor necapsulate.

Structură antigenică şi compoziţie chimică. Diverşi cercetători au izolat din bacilii cărbunelui diverse componente chimice. Astfel, în 1928, Schockart a identificat în soma bacililor o substanţă glucidică care precipită în prezenţa serului anticărbunos precipitant. Autorul consideră greşit această substanţă de natură capsulară, atribuindu-i funcţiuni agresinice. Combiescu, Soru şi Stamatescu (1929) pun şi ei în evidenţă, la bacilii cărbunelui, un polizaharid, precipitat de serul imun, însă lipsit de însuşiri agresinice. Ivanovics (1940) a arătat că polizaharidul prezent în soma bacilului cărbunelui se apropie, din punct de vedere imunologic, de substanţa capsulară, a pneumococului de tip 14, precum şi de complexul specific al globulelor roşii ale oamenilor din grupa sanguină A. Tomcsik, Szongott, Bodon, Ivanovics, Erdös, Buchner (1933—1937), pe de o parte, Schaefer şi Sandor (1937), pe de altă parte, au demonstrat, contrar afirmaţiilor lui Schockart, că substanţa glucidică prezentă la bacilii cărbunoşi este de natură somatică, ea găsindu-se atît la bacilii capsulaţi, cît şi la necapsulaţi. Autorii găsesc, însă, în culturile capsulate, pe lîngă antigenul glucidic, o a doua substanţă şi anume o polipeptidă, un polimer al acidului glutamic dextrogir (Ivanovics şi col., 1937, 1938). Cum această substanţă lipseşte din culturile necapsulate, avirulente, autorii îi atribuie o origine capsulară. Rezultatele serologice au confirmat de altfel această ipoteză. Într-adevăr, inocularea la iepure, pe cale intravenoasă, a germenilor lipsiţi de capsulă, provoacă apariţia unor anticorpi care precipită numai substanţa glucidică. Dimpotrivă, în aceleaşi condiţii, bacilii capsulaţi pot da naştere la anticorpi activi și față de antigenul somatic și față de cel capsular. Pe lîngă aceste substanțe, unii autori (Pochon, 1938) mai pun în evidență, la bacilii cărbunoși, capsulați sau nu, o nucleoproteină precipitată de majoritatea serurilor imune. Din culturile mucogene de pe agar Georgescu și Stamatin (lucrare inedită) izolează, pe lîngă substanța glucidică somatică și proteinică capsulară, o materie gumoasă, elastică, solubilă în apă alcalină — spre deosebire de proteina lui Tomcsik și Szongott, care se dizolvă în apă acidă — și care este precipitată de un ser imun preparat cu bacilii capsulați. Ionescu-Mihăești, Soru și Wiessner (1937) examinează, paralel, extractele obținute din bacilii a două tulpini de cărbune, una necapsulată și alta capsulată, mucogenă, constatînd că în extractul din germenii capsulați azotul se găsește sub formă de aminoacizi; aminoacizii sînt absenți în extractele care provin din bacilii necapsulați.

Combiescu și colaboratorii (1930) pun în evidență, în soma bacilului, un antigen heterofil care fixează anticorpii Forssman. În plus, bacilii cărbunoși injectați la iepure, dar nu la cal, produc hemolizine active față de globulele roșii de oaie. Serul anticărbunos de iepure dă cu antigenul Forssman o reacție specifică.

Conținutul în acizi nucleici al corpilor microbieni a fost determinat de Soru și colaboratorii (1952). Autorii constată că gravimetric acest conținut variază în raport cu faza de creștere; cea mai mare cantitate (5,89—7,60 mg pentru 100 mg de corpi microbieni uscați) se găsește în culturile de 3 ore și care se găsesc în faza de latență, iar cea mai mică (2,47—3,61 mg la 100 mg corpi microbieni uscați) la culturile de 24 de ore și care sînt în faza de declin. Corpii bacilari conțin ambii acizi nucleici. Cantitatea de acid dezoxiribonucleic nu variază în raport cu vîrsta culturii, dar variază în raport cu tulpina (1,20—2,40 mg pentru 100 mg de corpi microbieni uscați). În schimb, cantitățile de acid ribonucleic variază în limite mari, în special în raport cu vîrsta culturii 4,57—5,20 mg pentru 100 mg de bacili uscați, la culturile de 3 ore și 1,27—1,71 mg pentru 100 mg de bacili uscați la culturile de 24 de ore. Reiese din aceste date că acidul ribonucleic, la *Bac. anthracis* ca și la alte specii are un rol important în metabolismul celular. Există unele relații între virulența tulpinii și conținutul în acizi nucleici, în sensul că tulpinile virulente sînt mai bogate în acești complecși decît cele atenuate. Structura chimică ar putea deci da, după aceste date, unele indicații cu privire la virulența unei tulpini.

Sensibilitatea sporilor și formelor vegetative față de diverși factori fizici, chimici și biologici

Sporii sînt mult mai rezistenți față de diverși factori nocivi (fizici, chimici și biologici) decît formele vegetative. În cele ce urmează vom examina paralel modul de comportare a celor două forme sub care se poate prezenta bacilul cărbunos.

Factorii fizici. Temperatură. Formele vegetative sînt omorîte sigur la o temperatură de 55—60°C, în 10—15 minute, în timp ce sporii rezistă la această temperatură. Temperatura de fierbere a apei, distruge însă sporii în 3—5 minute. La 90°C sporii unor anumite tulpini rezistă 60 de minute. La autocalv, la o temperatură de 120°C, sporii de cărbune sînt omorîţi aproape instantaneu, însă sterilizarea materialului infecţios se face în mod obişnuit printr-o încălzire la 120°C timp de 5—15 minute. În cazul încălzirii apei infectate, în vase deschise, sporii pot fi antrenaţi şi găsiţi în vapori de apă ; de asemenea, în produsul de distilare a unei suspensii de spori, Stein şi Rogers, 1946, au găsit spori de antrax. Căldura uscată este mai puţin activă ca cea umedă ; astfel în cuptorul Pasteur, temperatura de 140°C nu omoară sporii decît în cîteva ore.

Datele asupra modului de acţiune a temperaturilor scăzute sînt contradictorii. Se pare că sporii nu sînt influenţaţi nici în vitalitatea, nici în virulenţa lor de temperaturi joase, atinse frecvent în timpul iernii, în zonele temperate. O temperatură foarte scăzută, 130°C, ar distruge, după unii autori, bacilii cărbunelui în cîteva ore, dar după alţii ei ar rezista cîteva ore chiar la temperatura aerului lichid (—180°C). Unele cercetări recente arată că sporii sînt omorîţi la temperatura de —60 pînă la —70°C, în timp de 90—124 de zile. La — 5 pînă la — 10°C sporii nu-şi pierd vitalitatea şi virulenţa nici după 10 ani. Îngheţarea la — 72°C şi dezgheţarea la 37°C, repetată de 4—18 ori, distrug formele vegetative ; sporii însă pot suporta această operaţie de 30 sau chiar de 45 de ori.

Comportarea în diverse medii. Sporii, uscaţi pe medii de cultură sau pe fire de mătase, precum şi în pămînt, se conservă timp îndelungat, 34 de ani, după Vladimirov. Stein (1947) constată că pe bucăţi de pînză, păstrate în plăci Petri, la temperatura camerei şi în lumina difuză, sporii mai sînt viabili după 22 de ani, dar nu mai sînt după 34 de ani. În aceste condiţii de conservare, numărul sporilor începe să scadă după 10 ani şi se reduce treptat, pe măsură ce timpul trece.

În apă, sporii se distrug, după unii cercetători, într-un timp relativ scurt, de 60 de zile.

Tulpinile sporogene, menţinute în tuburi pe medii solide, închise numai cu dop de vată, în care deci mediul se usucă în timp, îşi păstrează ani de zile însuşirile culturale şi de patogenitate. În aceleaşi condiţii mediile lichide sînt mai puţin favorabile unei asemenea conservări. Totuşi în bulionul închis în fiole, germenii se păstrează timp îndelungat Jacotot şi Virat (1954) au constatat că sporii vaccinului I al lui Pasteur suspendaţi în bulion, au dat culturi după 58, 62, 63 şi 66 de ani de conservare. Culturile obţinute omorau şoarecele, dar nu omorau cobaiul şi nu imunizau iepurele.

Tulpinile asporogene se conservă pe mediile de cultură şi la temperatura camerei un timp a cărui durată variază în limite largi, de la o tulpină la alta, dar care nu depăşeşte cîteva luni. Stamatin (1935), de exemplu, a izolat o variantă asporogenă care nu mai era transplantabilă de pe agar după 10 zile de conservare la temperatura camerei. Alte variante puteau fi transplantate după menţinerea lor timp de cîteva luni, la întuneric, în laborator.

Lumina constituie un factor bactericid atît pentru spori, cît şi pentru formele vegetative. O cultură în bulion este distrusă de razele soarelui, în prezenţa oxigenului, în 2, $\frac{1}{2}$ ore. În vid, aceeaşi cultură rezistă un timp mai îndelungat, 50 de ore. Bacilii din sîngele uscat, sînt omorîţi de razele solare într-un timp care variază în raport cu grosimea stratului de sînge, de la 6 la 15 ore.

Lumina solară directă, distruge formele vegetative în 6—15 ore, iar sporii în 4 zile.

Presiunile de 15—20 atmosfere distrug culturile sporulate de cărbune.

Factorii chimici. Antisepticele, în concentraţiile obişnuite, folosite pentru dezinfecţie, omoară repede formele vegetative şi într-un timp mai îndelungat sporii.

Astfel, fenolul în concentraţii de 1% omoară formele vegetative în 2 minute, iar în concentraţie de 5% omoară sporii în 2 zile (Koch), iar după alţi autori în 40 de zile. Rezistenţa faţă de antiseptice, în general, şi faţă de fenol, în special, variază în raport cu temperatura şi cu tulpina. Sporii din culturile vechi se pare că rezistă mai mult decît cei de curînd formaţi. Condiţiile de experimentare influenţează, la fel, rezultatele. Suspensiile prea dense dau de pildă, faţă de acelaşi antiseptic, rezultate diferite, în raport cu suspensiile mai puţin dense.

Glicerina în soluţie de 50% omoară formele vegetative, dar nu are nici un efect nociv asupra sporilor.

Formolul, în concentraţie de 1% şi la temperatura de 40°C, distruge sporii în cîteva minute. La temperatura camerei, formolul este mai puţin activ şi pentru a obţine dezinfecţia este necesară o acţiune de o durată mai lungă şi o concentraţie de antiseptic mai mare.

Soda caustică, în concentraţie de 5%, distruge repede sporii şi de aceea ea este cel mai recomandabil dezinfectant.

Sublimatul s-a dovedit foarte activ în experienţele lui Koch (1881). Soluţiile de 1/1 000 000 sînt bacteriostatice; în diluţie de 1/33 000, sublimatul este bactericid, după un contact prelungit, iar soluţiile de 1/20 000 omoară formele vegetative după 20 de minute. Sporii sînt mai rezistenţi. Totuşi, soluţiile 1/1 000 îi distrug în 5—12 minute, iar soluţiile de 1/10 000 într-o oră.

Clorura de var 5% omoară sporii într-un minut (după Voronţov şi col.,). Poliakov observă că soluţiile de clorură de var, care conţin 4% clor activ, omoară sporii în 3 minute.

Clorura de sodiu în soluţie de 15% şi chiar 36% (soluţie saturată) este inactivă faţă de spori, dar distruge formele vegetative. La fel se comportă soluţiile de alcool etilic 30%.

Factori biologici. În cadavrele nedeschise, bacilii cărbunoşi nu sporulează şi dispar în scurt timp. Dispariţia este cu atît mai rapidă cu cît temperatura mediului ambiant este mai ridicată şi deci mai prielnică dezvoltării proceselor de putrefacţie. La temperatura camerei, bacilii dispar din cadavrele cobailor cărbunoşi în 3—4 zile, iar din cadavrele păstrate la gheţar, la temperatura de 5—10°C, bacilii mai pot fi încă izolaţi după 14—24 de zile. În cadavrele deschise şi ţinute la o temperatură mai mare de 14°C şi mai mică de 42°C bacilii care se găsesc la suprafaţa organelor sporulează şi pot fi izolaţi după un timp îndelungat.

Lichidele organice — serul sanguin — provenind de la unele specii animale exercită o acţiune bactericidă ridicată faţă de bacilul cărbunos.

Este cunoscută, în special, activitatea bactericidă a serului de iepure și de cal. Trebuie semnalat că sîngele total — sînge citratat sau defibrinat — al celor două specii, spre deosebire de serul lor sanguin, este total inactiv.

Tabelul 49

Activitatea diverselor lichide organice asupra bacilului cărbunos (după Boquet și Stamatin, 1939)

Nr. crt.	Natura produsului organic	Numărul bacililor însămînțați	Volumul de lichid în care au fost însămînțați bacilii	Numărul coloniilor obținute însămînțînd cu acul din lichid după un conatct de:		
				5 minute	6 ore	24 ore
1	Ser proaspăt de iepure	30 000 bacili de cultură	0.75 ml	10	0	0
2	Lichid de edem proaspăt de la iepure [1]	30 000 bacili de cultură	0.75 ml	6	0	0
3	Același lichid ca la nr. 2 încălzit 30 minute la 56°C	30 000 bacili de cultură	0.75 ml	4	0	∞
4	Același lichid ca la nr. 3.	3 000 bacili de cultură	0.75 ml	0	0	0
5	Lichid de edem de la iepure, centrifugat pentru a elimina elementele figurate	3 000 bacili de cultură	0,75 ml	0	0	0
6	Lichid de edem proaspăt de la iepure	300 000 bacili capsulați din cultură cu ser de cobai	0,75 ml	150	0	0
7	Lichid de edem proaspăt de la iepure	3 000 bacili capsulați din edem de la iepure	0.75 ml	0	0	0
8	Ser proaspăt de cobai	300 bacili de cultură	0.75 ml	4	14	∞
9	Sînge defibriant de iepure	80 bacili de cultură	0,75 ml	1	2	∞

[1] Lichidul a fost recoltat de la iepuri cărora li s-a injectat în prealabil, pe fața ventrală, subcutan și în mai multe puncte, toxină stafilococică.

∞ — colonii extrem de numeroase.

Lichidul edemului inflamator de iepure apare, așa cum rezultă din lectura tabelului alăturat, ca cel mai activ. El este capabil să distrugă o cantitate enormă de bacili capsulați sau necapsulați, și, după unii autori, este activ chiar faţă de spori. Serul sanguin de iepure este şi el destul de activ. În schimb, serurile sanguine de cobai, oaie, bou, sînt total inactive.

Antibioticele exercită, atît in vitro, cît şi in vivo, o însemnată acţiune nocivă asupra bacilului cărbunelui.

După cercetările inedite făcute de Vior şi Mitroiu, tulpinile virulente sînt inhibate în vitro (bulion) de 8—10 U. I./ml de penicilină şi de 5 gama/ml de streptomicină. Tulpinile edematogene şi acapsulogene sînt mai sensibile decît cele viruente, doza inhibantă fiind pentru ele 4 U.I./ml de pencilină şi 1 gama/ml de streptomicină. Germenii virulenţi, cultivaţi în plasmă de oaie unde se incapsulează, au aceeaşi sensibilitate faţă de cele două antibiotice ca şi cei necapsulaţi din bulion. Capsula nu exercită, în aceste condiţii, o acţiune de protecţie faţă de bacili. Bacilii saprofiţi din sol sînt mai rezistenţi ca bacilii cărbunelui faţă de cele două antibiotice. Doza inhibantă, pentru aceşti germeni, este în medie de 20 U.I./ml de penicilină şi de 10 gama/ml de streptomicină. Aureomicina, cloromicetina teramicina sînt active faţă de *Bac. anthracis*.

Sulfatiazolul este inhibant în doze sensibile egale: 0,04 gama/ml atît pentru *Bac. anthracis* virulent sau avirulent cît şi pentru speciile saprofite din sol.

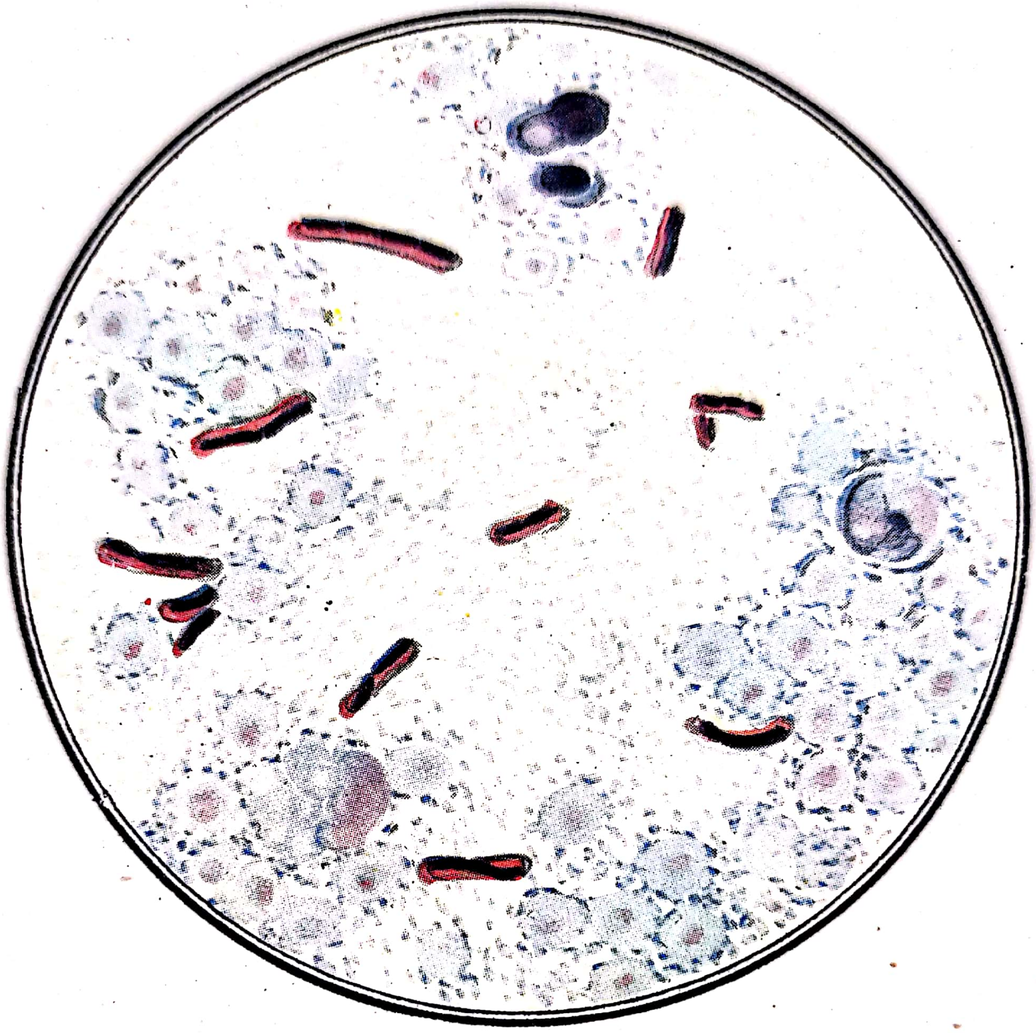
Penicilina modifică profund morfologia germenului (Varachin, 1948, Minck şi Minck, 1949).

Bacteriofagul. Tulpini de bacteriofag active faţă de *Bac. anthracis* au fost izolate de Cowles (1931), McCloy (1951), Brown şi Cherry (1955). Tulpina izolată de McCloy produce pe agar o liză totală a germenilor asporogeni.

Bacilii capsulaţi care dau colonii mucogene sînt insensibili. De asemenea, tulpinile bacililor saprofiţi, sporulaţi şi aerobi din sol sînt rezistente şi autoarea plecînd de la aceste date afirmă că bacteriofagul poate fi folosit pentru identificarea tulpinilor de *Bac. anthracis*.

Capsulogeneza

Serafini (1888) atrage cel dintîi atenţia asupra posibilităţii pe care o are bacilul cărbunelui de a se încapsula atunci cînd pătrunde şi se multiplică în organismele animalelor receptive. După această semnalare, alţi cercetători s-au ocupat de metodele de colorare, condiţiile de apariţie şi semnificaţia ei biologică (Preisz, 1904, Stamatin, 1931). În cursul acestor cercetări, s-a constatat, de exemplu, că bacilii, chiar cei virulenţi, sînt lipsiţi de capsulă pe mediile obişnuite de cultură; este de remarcat totuşi, că în cultura de pe agar se găsesc totdeauna rari germeni capsulaţi. Procesul de încapsulare se accentuează însă şi chiar se generalizează cînd acestor medii li se adaugă lichide de origine animală — ser, sînge, lichid de ascită etc. Prin cultivarea în sînge defibrinat sau citratat, sau în serul provenit de la diverse mamifere, se obţine, în linii generale, acelaşi rezultat, adică o generalizare a încapsulării bacililor. Inoculaţi unor organisme receptive în doze mortale, germenii se încapsulează cu regularitate. Inoculaţi unor animale refractare sau imune, bacilii sînt distruşi înainte de a se încapsula; ei formează însă capsule, chiar în asemenea organisme, dacă



Bacillus anthracis
Frotiu din splină de cobai. Coloraţie: Giemsa (desen: *Cerni*)

sînt în interiorul unui sac de colodiu. Substanțele bactericide din umori neputînd, după cît se pare, traversa membrana de colodiu, nu ajung în contact cu bacilii şi nu-i distrug; în schimb, principii capsulogenetici ajung în lichidul din sac.

În condiţii favorabile, secreţia capsulară devine repede evidentă. Combiescu (1928) pune în evidenţă această formaţie la 5—10 minute după realizarea contactului dintre bacili şi principiile organice (plasmă, sînge) care excită această funcţie. Iniţial, substanţa capsulară care înconjoară germenul este lipsită de consistenţă, marginile capsulei fiind ondulate şi deformabile; de pildă, în contact cu globulele roşii, capsula se mulează pe forma acestor globule. Prin învechire, consistenţa capsulei creşte, ajungînd la acele forme geometrice perfecte pe care le întîlnim în organele animalelor moarte de cărbune. Grosimea capsulei variază în limite largi; aceste variaţii sînt în funcţie de tulpină, de vîrsta capsulei şi de mediu. Capsulele de curînd formate sînt mai groase decît cele de formaţie veche. Dimensiunile ei sînt mai accentuate în unele medii decît în altele; în organele de porc bacilii au o capsulă mai groasă decît în cele de bou sau de oaie.

Bacilii capsulaţi conţin, după Ionescu-Mihăeşti şi colaboratorii (1937), mult mai multe substanţe minerale decît bacilii necapsulaţi.

Geneza şi semnificaţia biologică a capsulei nu sînt încă complet lămurite. Este foarte probabil că secreţia capsulară este o consecinţă a unor tulbărări de metabolism, a unui dezechilibru între activitatea fermenţilor exogeni şi puterea de asimilare a celulei bacteriene, în sensul că activitatea exterioară de transformare a substanţelor nutritive din mediu depăşeşte puterea de asimilare a celulei. Bacilii pot într-adevăr asimila substanţa capsulară şi fenomenul este bine vizibil în următoarele condiţii: un tub de agar cu o cultură mucoasă de cărbune se închide la flacără şi se lasă la temperatura camerei; în aceste condiţii se observă o modificare a aspectului coloniilor şi anume, acestea devin din ce în ce mai plate, pînă ce se transformă într-o peliculă fină, ce conţine bacili şi spori şi din care substanţa capsulară a dispărut. Transformări de acest fel nu se observă la culturile nemucogene. Dispariţia mucusului din coloniile mucogene pare a fi, deci, în legătură cu procesele de nutriţie a bacteriei într-o atmosferă în care oxigenul devine, desigur, din ce în ce mai rar, fiind consumat de bacili.

Soru şi Wiesner constată, în această ordine de idei, că în anaerobioză bacilii cărbunelui dehidrogenează acidul d-glutamic (componentul principal al capsulei), reducînd albastrul de metilen.

Afinităţile tinctoriale variază în raport cu vîrsta capsulei. În general, capsulele de formaţie recentă se colorează după metoda Giemsa în violet-intens, uneori mascînd corpul bacilului, alteori nu; cele de o formaţie mai veche şi în special capsulele goale sînt colorate în violet-palid.

Secreţia capsulară este absentă la bacilii avirulenţi, dar este totdeauna prezentă la bacilii capabili să producă septicemia cărbunoasă; această constatare a făcut pe mulţi autori să atribuie capsulei un rol protector pentru germeni şi agresiv pentru organism.

Variante acapsulogene, total sau parţial apatogene, se pot obţine sub influenţa factorilor fizici, chimici sau biologici, care degradează virulenţa germenilor.

Relaţiile dintre Bac. anthracis şi alte specii de bacili aerobi, Gram pozitivi şi sporulaţi

Morfologic, cultural şi chiar antigenic, bacilul cărbunelui are proprietăţi comune cu alţi bacili Gram pozitivi şi aerobi din sol. Morfologic şi cultural, o distincţie între bacilul cărbunelui şi aceşti bacili este adeseori imposibilă. În general bacilii saprofiţi nu capsulează în organism sau pe medii cu sînge sau ser sanguin, nu formează lanţuri lungi în mediile de cultură, tulbură mai mult sau mai puţin intens bulionul, iar aspectul cultural al coloniilor pe agar este deosebit de al bacililor cărbunelui. Probele serologice nu permit totdeauna distincţia bacilului cărbunelui de bacili saprofiţi. Patogenitatea pentru animalele de laborator este caracterul distinctiv cel mai net. Bacilii saprofiţi, sînt apatogeni, iar bacilul cărbunelui, aşa cum îl găsim în mediu natural, adică în organismul animalelor infectate, este patogen. El produce o septicemie mortală la animalele de experienţă şi în cadavrele acestora se găsesc bacili capsulaţi.

Este de semnalat însă că unii saprofiţi au un grad oarecare de patogenitate; astfel, *Bac. cereus* care este socotit ca cel mai apropiat de *Bac. anthracis*, este patogen pentru animalele de experienţă (Burdon, 1947). Pe cale intraperitoneală el omoară şoarecele în 6 ore, iar la cobaii şi iepurii injectaţi pe cale subcutană produce leziuni locale hemoragice şi granuloase şi uneori, moartea. În organele animalelor moarte nu se găsesc însă bacili capsulaţi. *Bac. cereus,* spre deosebire de *Bac. anthracis,* este un hemolitic foarte activ şi lichefiază mai repede şi mai complet gelatina.

Poziţia *Bac. cereus* nu este încă precizată în sistematica bacteriană. El este socotit, de unii cercetători, sinonim cu *Bac. anthracoides* descris de Hüppe şi Wood în 1889, precum şi cu *Bac. pseudoanthracis* descris de Wahrlich, la Petersburg, în 1890. *Bac. cereus* pare a fi patogen, în condiţii naturale pentru unele insecte. Astfel el a fost identificat ca agentul unei infecţii la viermii de mătase (Toumanoff şi Vago. 1952—1953).

În tabelul 50 sînt înregistrate caractere distinctive mai importante dintre *Bac. anthracis* şi speciile de bacili sporulaţi Gram pozitivi, mai răspîndite în natură.

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Toxicitate. Bac. anthracis nu eliberează toxine în mediile de cultură. Într-adevăr, filtratul unei culturi proaspete sau vechi, precum şi filtratul sîngelui provenit de la animalele moarte de cărbune, nu provoacă tulburări animalelor de experienţă. Unii cercetători au putut însă pune în evidenţă, în anumite condiţii de cultură, substanţe toxice. Marmier (1895), de pildă, în vederea obţinerii toxinei, cultivă bacilul în apă peptonată, glicerinată timp de 10 zile la 30°C sau 15 zile la 20°C; în filtratul obţinut din aceste culturi, în urma saturării cu sulfat de amoniu, se constituie un precipitat; acesta este separat printr-o nouă filtrare, solubilizat şi soluţia obţinută este dializată; lichidul după dializare, este concentrat în vid şi precipitat cu alcool; precipitatul, spălat cu alcool şi uscat, constituie substanţa toxică. Injectată la iepure, în doze variind de la 20 la 120 mg, produce tulburări (diaree, slăbire, febră), care provoacă moartea animalului în 2—15 zile. Cobaii şi şoarecii sînt mai sensibili decît iepurele. Substanţa toxică rezistă la fierbere şi, timp scurt, la 110°C sau chiar la 120°C.

Produse toxice au putut fi obţinute şi în alte condiţii de lucru. Stamatin a constatat, de pildă, că lichidul sirupos care rezultă din evaporarea unei culturi în bulion, veche de 7—8 zile, provoacă moartea şoarecelui, în cîteva minute, cînd este administrat, în doză de 0,5 ml, pe cale intraperitoneală. La autopsie se constată un lichid citrin abundent în cavitatea peritoneală. Injectat la cobai pe cale subcutană şi în doză de 1 ml el produce un edem gelatinos, care se resoarbe fără a lăsa animalului o cît de slabă stare de imunitate. Acţiunea toxică se datoreşte probabil prezenţei în concentraţii mari a unor substanţe organice.

In vivo, *Bac. anthracis*, în cursul înmulţirii sale, secretă substanţe cu funcţiuni agresinice evidente. Smith şi Keppie (1954) afirmă că in vivo bacilul secretă o substanţă cu efect letal care se găseşte în filtratul plasmei obţinute din sîngele cobailor morţi de cărbune ; un asemenea filtrat, inoculat intraperitoneal sau intravenos la şoarece în doză de 0,25—1 ml iar la cobai în doză de 3—6 ml provoacă moartea celor mai multe dintre animalele astfel tratate. La autopsie se găsesc leziuni asemănătoare celor întîlnite în infecţia cărbunoasă experimentală. Activitatea nocivă a filtratului este neutralizată prin serul anticărbunos. Autorii afirmă că acest principiu ar cauza moartea în infecţia cărbunoasă.

Virulenţa caracterizează acţiunea patogenă a bacteridiei cărbunoase. Tulpinile izolate de la animalele moarte, în urma infecţiei spontane, au aproximativ aceeaşi virulenţă. Ele omoară iepurele, pe cale intradermică, cu a 50 000—100 000-a parte dintr-un mililitru de cultură de 24 de ore în bulion ; cobaiul este omorît de doze încă şi mai mici, 1/1 000 000 ml dintr-o cultură de 24 de ore în bulion. Ţinînd seama că 1 ml dintr-o asemenea cultură conţine 10—25 milioane de germeni, înseamnă că 10—25 de bacili omoară cobaiul şi 100—250 iepurele. La şoarece, chiar un singur bacil poate produce o septicemie cărbunoasă. Marton (1927) a inoculat, la şoareci, bacili pe care îi izola, cu micropipeta, dintr-o splină cărbunoasă constatînd că din 50 de şoareci inoculaţi cu un bacil, au murit 14, din 20 inoculaţi cu doi bacili au murit 10, din 20 inoculaţi cu 5 bacili au murit 13, din 11 inoculaţi cu 10 bacili au murit 8 şi, în fine, 20 de bacili au infectat mortal toţi şoarecii. Autorul nu avea nici o probă că toţi bacilii inoculaţi sînt vii şi este foarte probabil că în splina şoarecelui infectat se găseau şi cadavre bacteriene, aşa că faptul că din 50 de şoareci inoculaţi cu un singur bacil nu au murit decît 36 poate fi datorit şi inoculării unor germeni morţi.

Atenuarea virulenţei. Tulpinile izolate de la animalele spontan infectate, păstrate sub formă de spori, fie pe fire de mătase îmbibate în culturi sporulate şi apoi uscate, fie în culturi pe agar uscate şi păstrate la temperatura camerei, la adăpost de lumină, îşi conservă timp îndelungat aceeaşi virulenţă. Unii autori constată că, în asemenea condiţii, o tulpină nu-şi modifică virulenţa nici chiar după 28 de ani. În natură, sporii de

Diferenţa morfologică şi biologică între Bac. anthracis şi unii germeni telurici

Denumirea germenului	Mobilitatea	Capsularea	MEDII LICHIDE			
			Bulion	Bulion cu sînge	Lapte	Zer turnesolat
Bac. anthracis	—	+	Cultura apare după 7—8 ore; după 18-24 ore bulionul prezintă un depozit floconos, delicat greu omogenizabil. Nu se formează membrană pe suprafaţa bulionului; cîteodată se formează un inel aderent de perete care se spală uşor.	Nu produce hemoliză	Acidifiere, coagulare şi apoi peptonizare	Înroşeşte
Bac. pseudoanthracis sau Bac. cereus	Slabă	—	Tulbură bulionul: la fund depozit sfărîmicios greu omogenizabil; uneori membrană la suprafaţă	Produce hemoliză	Peptonizare rapidă cu sau fără coagulare	Înălbăstreşte
Bac. subtilis	+	—	La început tulbură, însă după apariţia membranei mediul se clarifică	—	Peptonizare slabă; alcalinizare	—
Bac. mezentericus sau Bac. pumilus	+	—	Rămîne aproape clar, cu apariţia unei membrane plisate la suprafaţă	—	Peptonizare uneori coagulare	—
Bac. megatherium	Slabă	—	Tulburare uniformă. Depozit neînsemnat fără membrană la suprafaţă	—	Peptonizare	—
Bac. mycoides sau Bac. cereus var. mycoides	+	—	Bulionul este clar, la fund un depozit asemănător cu al culturii bacilului cărbunelui	La fel ca Bac. cereus	La fel ca Bac. cereus	—

Tabelul 50

aerobi facultativi, sporulați și Gram pozitivi (după Mihin și date din literatură)

MEDII SOLIDE		PATOGENITATE	
Gelatină	Agar	Șoarece	Cobai și iepure
De-a lungul înțepăturii pleacă delicate ramuri orizontale, aspectul culturii amintind forma unui brad răsturnat. După 3-4 zile lichefiere și depozit floconos	Coloniile tinere sînt albe ca fulgii de zăpadă; la microscop se observă că ele sînt constituite din fire împletite, comparabile cu cele de păr încrețit.	Patogen	Patogen
De-a lungul înțepăturii pleacă ramuri laterale; lichefiază repede gelatina	Colonii rotunde, albe, tari, pe margini împletituri de fire distribuite în loji, uneori colorate galben-gri fluorescent	Patogen cînd este inoculat intraperitoneal în doze masive	Nepatogen Patogen pentru viermii de mătase
Colonia este înconjurată de o coroană; membrană pe suprafața gelatinei lichefiate	Colonii mate, de culoare alburie-gris, ridicîndu-se pe peretele eprubetei; membrana apare pe suprafața lichidului de condensație	Nepatogen	Nepatogen
Colonii rotunde; lichefiază gelatina încet	Colonii aspre, de culoare albă-mată; membrană pe suprafața lichidului de condensație	"	"
Lichefiază slab gelatina	Colonii mucoase de culoare albă-gălbuie; negre cînd tirozina este prezentă în mediu	"	"
Lichefiază repede gelatina	Colonii groase, rizoide, întinzîndu-se pe mediu, aderînd sau crescînd în agar	"	"

cărbune conservă, probabil, un timp îndelungat, virulenţa germenilor. Sporii sînt, în general, insensibili faţă de diverşi factori fizici sau chimici, reputaţi că au o acţiune atenuantă asupra virulenţei. Formele vegetative ale bacilului cărbunos sînt, dimpotrivă, foarte sensibile. Răpirea sau micşorarea virulenţei acestor din urmă forme este o operaţie uşor de realizat, aşa cum au arătat, începînd cu Pasteur, numeroşi cercetători. Pentru ca operaţia să fie încununată de succes, trebuie să se experimenteze cu bacili nesporulaţi, care totdeauna, în mod constant, se găsesc în organele animalelor moarte de antrax. Însămînţînd sîngele unui animal în bulion şi trecînd repede tuburile la temperatura de 42—43°C, se constată că bacteridia se înmulţeşte, dar nu sporulează, şi că virulenţa germenilor scade de la o zi la alta. Inhibarea procesului de sporulare şi atenuarea consecutivă a bacililor se pot obţine şi în medii care conţin unele substanţe antiseptice — fenol, acid sulfuric, bicromat de potasiu, clorură de sodiu 5% în diluţii care nu pot împiedica vegetaţia. De asemenea, cultivarea în lichide organice (sînge defibrinat de cal, de exemplu) duce la apariţia variantelor atenuate printre germenii unei tulpini virulente (Stamatin, 1931, 1934). Sanarelli şi Alessandrini (1933) observă, în acelaşi sens, că bacilii virulenţi puşi în saci de colodiu şi introduşi în cavitatea peritoneală la iepuri, dau variante atenuate. După 83 de zile de menţinere în cavitatea peritoneală germenii au devenit total apatogeni. Prezenţa sporilor nu împiedică, nici în cazul folosirii sîngelui şi nici a sacilor de colodiu, atenuarea tulpinilor.

Pierderea virulenţei unei tulpini de *Bac. anthracis* pare a fi un fenomen ireversibil. Tulpinile atenuate nu-şi mai recapătă virulenţa aşa cum reiese din numeroase cercetări (Tsilinski, 1892, Hruska, 1925, Sanarelli şi Alessandrini, 1933).

Preisz (1904), ca şi alţi cercetători, a constatat că metoda lui Pasteur de atenuare, nu este aplicabilă tuturor tulpinilor şi nici chiar tuturor germenilor dintr-o tulpină. Unii germeni se atenuează mai repede, alţii mai încet sau de loc. Plecînd de la germenii unici, izolaţi cu micromanipulatorul, Takahashi (1938), observă, într-adevăr, că degradarea virulenţei nu este egală, în condiţii de cultură identice, la toţi descendenţii aceleiaşi celule bacteriene. Dintr-o asemenea cultură se pot izola germeni virulenţi, alături de germeni complet apatogeni. Aceste cercetări mai dovedesc că atenuarea este un fenomen care se produce sub influenţa factorilor de mediu.

S-a afirmat de către fixişti că izolarea unei variante atenuate dintr-o cultură virulentă nu înseamnă că această variantă a apărut în anumite condiţii şi conform concepţiilor fixiste ea a putut exista şi înaintea intervenţiei acestor condiţii, iar izolarea ei nu reprezintă decît un proces de selecţie. Cercetările lui Takahashi infirmă aceste concepţii, el reuşind să izoleze variante cu diferite grade de virulenţă chiar în cazul cînd a plecat de la un singur germen.

Infecţia experimentală

Consideraţii generale privind importanţa speciei animale, a virulenţei tulpinii, a căii de administrare şi a dozei în producerea infecţiei cărbunoase

Reproducerea infecţiei cărbunoase la animale este condiţionată de patru factori, şi anume: 1) receptivitatea organismului animal; 2) virulenţa tulpinii; 3) doza injectată; 4) calea de introducere a germenilor în organism sau poarta de intrare. Fiecare din aceşti patru factori îşi are importanţa sa în realizarea infecţiei experimentale. Se constată însă o strînsă interdependenţă între ei, în sensul că neglijînd pe unul se pot trage concluzii false cu privire la valoarea celuilalt. Astfel, neglijînd virulenţa tulpinii folosite se poate ajunge la concluzii false asupra receptivităţii unei specii sau a unui individ dintr-o specie sau asupra receptivităţii unui anumit ţesut din organism. La fel, folosind doze necorespunzătoare sau căi de inoculare improprii se poate ajunge la rezultate greşite în ceea ce priveşte virulenţa unei tulpini sau receptivitatea unui organism. Asemenea neglijenţe pot avea consecinţe dezastruoase în practica preparării vaccinurilor anticărbunoase şi în special în controlul inocuităţii lor; de aceea trebuie să le dăm o deosebită atenţie atunci cînd sîntem chemaţi să experimentăm în cărbune.

Receptivitatea organismelor animale faţă de bacteridia cărbunoasă variază de la o specie la alta, dar şi în cadrul aceleiaşi specii se întîlnesc variaţii individuale însemnate. Că speciile animale nu sînt egal de receptive acesta este un fapt unanim şi de mult timp recunoscut. Şoarecele este specia cea mai sensibilă, iar găina cea mai rezistentă. Între aceste două extreme se situează celelalte specii animale receptive. În cadrul aceleiaşi specii se constată variaţii de receptivitate în raport cu greutatea corporală, vîrsta şi integritatea fiziologică. Animalele de talie mai mare sînt mai puţin receptive decît cele de talie mai mică, cele adulte mai rezistente decît cele tinere. Animalele cu deficienţe fiziologice, dezechilibru alimentar, avitaminoze, sînt mai sensibile decît cele echilibrate fiziologic. Practic, aceste diferenţe de receptivitate, legate de integritatea fiziologică a organismului în experienţă, se traduc prin deosebirile constatate între organismele aceleiaşi specii în diferitele anotimpuri ale anului. Vara, de pildă, rezistenţa iepurilor şi a cobailor faţă de bacteridia cărbunoasă este mult mai însemnată decît iarna.

Virulenţa tulpinilor de antrax poate fi, aşa cum s-a arătat, degradată cu uşurinţă şi de aceea între tulpinile de laborator, care nu sînt conservate în condiţii corespunzătoare, se întîlnesc numeroase variaţii. În general, tulpinile îşi conservă mult timp, sub formă de spori, aceeaşi virulenţă. Trecerile frecvente pe mediile de cultură, în special pe mediile lichide, înlesnesc degradarea virulenţei şi de aceea ele trebuie cît mai mult evitate, cînd vrem să conservăm activitatea patogenă a unei tulpini. Influenţa trecerilor frecvente asupra virulenţei se explică prin sensibilitatea pe care o au formele vegetative faţă de diverşi factori nocivi din mediu.

Oricare ar fi condiţiile de conservare a unei tulpini, virulenţa ei trebuie măsurată pe animale de experienţă, înainte de a începe cercetări privind problemele legate de patogenia infecţiilor cărbunoase, receptivitatea speciilor, sensibilitatea diverselor porţi de intrare etc.

Doza infectantă este strîns legată de receptivitatea speciei, de virulența tulpinii și de poarta de intrare. Ea va fi cu atît mai mică, cu cît animalul folosit va fi mai receptiv, tulpina mai virulentă și poarta de intrare mai propice și, dimpotrivă, cu atît mai mare cu cît animalul este mai rezistent, tulpina mai puțin patogenă sau calea de introducere mai puțin propice.

Doza minimă se poate evalua prin numărul de germeni, forme vegetative sau spori (numărători în plăci Petri), sau prin volumul minim infectat dintr-o suspensie anumită, de pildă cultură în bulion de 24 de ore. Culturile în bulion, făcute în condiții egale și din aceeași tulpină, dau de regulă rezultate constante, adică doza minimă mortală nu variază de la o experiență la alta. Este necesar însă, pentru a obține rezultate asemănătoare de la o experiență la alta, ca mediul să fie însămînțat mereu în condiții egale, să aibă aproximativ aceeași compoziție, volumul pus în tub să fie mereu același, iar dimensiunile tubului să nu varieze prea mult. Variațiile în dimensiunile tubului aduc variații în înălțimea coloanei de lichid, ceea ce modifică numărul de germeni pe unitatea de volum.

Poarta de intrare are un rol însemnat în realizarea infecției. Într-adevăr, se constată diferențe însemnate, în gradul de receptivitate a diverselor țesuturi, față de bacteridia cărbunoasă.

Infecția pe cale cutanată. În 1921—1922, Besredka reia problema, dezbătută fragmentar pînă la această dată, a receptivității diverselor țesuturi animale, ajungînd la concluzia exclusivistă că pielea este singurul țesut în care bacteridia se poate fixa și înmulți. Bălteanu (1922) confirmă cercetările lui Besredka, folosind o tehnică ingenioasă. Autorul, pentru a evita orice contact al pielii cu bacilii, introduce subcutan, la cobai, tuburi de sticlă care conțineau cultura cărbunoasă. Tuburile, după ce plaga s-a cicatrizat complet, sînt sfărîmate sub piele. În aceste condiții cultura se răspîndește în țesutul conjunctiv subcutan, dar ea nu produce o infecție mortală. Aceste experiențe confirmau ipoteza lui Besredka, după care infecția, în cazul inoculărilor subcutane sau interperitoneale, făcute în condiții obișnuite, este datorită germenilor care au rămas în piele, de pe acul cu care s-a făcut injecția, iar nu celor care au fost introduși în țesutul hipodermic sau în cavitatea peritoneală.

Besredka și apoi Bălteanu au folosit ca animale de experiență cobaiul, iar ca tulpini infectante vaccinurile anticărbunoase pasteuriene. Întrebuințarea acestor germeni de o virulență redusă a făcut pe autori să ajungă la concluzii atît de exclusiviste. Cercetătorii care au recurs la germenii virulenți și la doze mari de cultură au realizat infecția cărbunoasă a iepurelui și a cobaiului și pe alte căi decît cea cutanată. Combiescu, în 1923, infectează de pildă, iepurii și cobaii pe cale peritoneală, pulmonară, hepatică sau splenică, folosind bacilii virulenți în doze mari. Mai mult încă, Cernăianu și Suhățeanu (1924) dovedesc că țesutul cerebral este chiar mai sensibil decît pielea față de infecția cărbunoasă. După acești autori, în ordinea receptivității, țesuturile pot fi grupate astfel : creier, pielea și mucoasele, pleura, sîngele, ficatul și peritoneul. Receptivitatea excepțională a creierului a fost în totul confirmată și de alți cercetători. Cornelson, Toma și Constantinescu (1949) constată, de exemplu, că speciile animale (păsările) socotite refractare pot fi regulat infectate pe cale intracerebrală. Mai mult încă, vaccinarea sau serumizarea acestor animale nu împiedică dezvoltarea infecţiei în cazul injecţiei culturii pe cale intracerebrală.

Sobernheim şi Muratta (1931) pentru a aprecia sensibilitatea diverselor ţesuturi, determină pe cobai, pentru aceeaşi tulpină, doza minimă infectantă; ei constată că această doză este, pe cale intracutanată, de 1/100 000—1/000 000, pe cale subcutană sau intramusculară 1/1 000 000, intreperitoneală 1/10 000—1/50 000 şi intravenoasă 1/10 000 dintr-o ansă de cultură virulentă.

Rezistenţa peritoneului deja semnalată şi de mult cunoscută a fost cercetată de diverşi autori; această rezistenţă, cu toate că este puternică, poate fi învinsă, aşa cum reiese şi din cercetările lui Popovici (1934), care foloseşte, în scopul de a evita infecţia pielii, o tehnică originală. El excizează, în primul rînd, o bucată de piele de pe faţa ventrală a cobaiului, iar pe plagă, 24 de ore mai tîrziu, pune o picătură de esenţă de terebentină, care produce o inflamaţie locală puternică. Regiunea, astfel inflamată, prezintă o rezistenţă mare faţă de bacteridie; prin ea se face inocularea intraperitoneală a germenilor, avînd astfel siguranţa că aceştia nu ajung în regiunea sensibilă din piele. În aceste condiţii, pentru a produce infecţia cu tulpini atenuate, pe cale intraperitoneală, sînt necesare cantităţi de cultură de 600—650 de ori mai mari decît cele care produc infecţia pe cale dermică; cobaiul suportă perfect pe cale peritoneală 50—100 de doze minime mortale pentru calea dermică. Aceste date arată, că pielea este un ţesut receptiv faţă de bacilul cărbunos, dar că nu este singurul. Printre diversele ţesuturi, ea ocupă un loc de prim ordin în ceea ce priveşte capacitatea ei de a cultiva bacteridia.

Combiescu (1928) explică variaţiile de receptivitate a diverselor ţesuturi prin diferenţa potenţialului lor defensiv. Cu cît un ţesut este mai vascularizat şi deci mai capabil să concentreze, într-un timp mai scurt, elemente umorale şi figurate ale apărării, cu atît infecţia se face mai greu. Pielea constituie o poartă favorabilă de intrare a bacteridiei, pentru că, în acest ţesut, focarul inflamator se constituie încet; în peritoneu, dimpotrivă, afluxul leucocitar urmează repede infecţiei. În ultimul caz bacteridiile sînt fagocitate înainte de a se încapsula; în primul caz, fagocitoza este în tot timpul infecţiei practic absentă. De altfel, ceea ce confirmă ipoteza de mai sus, ţesuturile cele mai receptive pot fi transformate în foarte rezistente, prin provocarea artificială a unui factor inflamator. În focarele inflamatorii cutanate la iepure se pot inocula, aşa cum au arătat, într-un stadiu de ansamblu, Boquet şi Stamatin (1939), cîteva mii de doze minime mortale de cărbune virulent, fără ca infecţia să se producă. Sterne (1948) face cercetări asemănătoare pe cobai, specie care se comportă altfel decît iepurele faţă de infecţia cărbunoasă, obţinînd, în linii generale, aceleaşi rezultate. Cobaii, cărora li se injectează 50—100 de doze minime mortale de spori cărbunoşi (tulpina vaccin Pasteur II) într-un focar inflamator, rezistă, sau dacă nu rezistă, mor mult mai tîrziu decît martorii injectaţi în ţesutul sănătos. Sterne observă la cobai un fenomen care nu se constată la iepure, şi anume că focarul inflamator produs de saponină activează dozele submortale de spori, făcîndu-le mortale. Focarul inflamator provocat de saponină înlesnește înmulțirea și conservarea germenilor vaccinali și deci instalarea imunității.

Focarul inflamator, prin fagocitele și substanțele antibacteriene de natură umorală pe care le conține, asigură distrugerea germenilor. Elementele locale sînt factorii defensivi activi și raportul dintre aceste elemente și bacterii decide evoluția conflictului. Dacă germenii sînt mai numeroși, se va produce infecția ; dimpotrivă, ei vor fi distruși dacă superioritatea numerică este de partea elementelor defensive. Wolmann și Bardach (1936) au pus în evidență importanța acestui raport de forțe, pentru evoluția unui proces infecțios, printr-o experiență foarte simplă. Ei inoculează, sub piele, la un lot de cobai, cîte o doză minimă mortală de cultură, iar la cobaii altui lot, aceeași doză, însă repartizată în mai multe puncte, și constată că animalele din primul lot mor regulat de cărbune, în timp ce la cele din al doilea lot mortalitatea este foarte redusă.

Elementele defensive locale distrug un număr de germeni mai mic decît doza minimă mortală, dar nu pot distruge numărul de germeni care reprezintă însăși doza minimă mortală.

Integritatea fiziologică a țesuturilor condiționează potențialul lor defensiv. În această direcție se constată că substanțele care alterează normala fiziologie a țesuturilor le scade rezistența față de cărbune. Astfel, soluțiile concentrate de sare (30%) care necrozează țesuturile înlesnesc instalarea infecției și transformă dozele submortale de cultură în doze mortale.

Bacteriile introduse pe cale parenterală unui animal receptiv dau naștere, în mod constant, la o infecție, cu condiția ca germenii să fie suficient de virulenți și doza suficient de mare. Cu cît țesutul este mai receptiv, cu atît doza necesară este mai mică, și invers. Calea dermică, deși nu este cea mai severă, este însă mai comodă decît cea cerebrală și se folosește în mod curent fie pentru a determina virulența unei tulpini, fie pentru a descoperi bacteridia într-un material patologic. Acolo unde alte căi ar putea da un rezultat negativ, calea intradermică dă rezultate pozitive. Introducerea materialului suspect pe cale subcutană și mai ales peritoneală poate da naștere la erori. Este suficient ca punctul în care acul traversează pielea să prezinte un ușor focar inflamator, pentru ca infecția, mai ales la iepure, să nu se producă.

Infecția pe cale digestivă. Administrarea materialului infecțios per os dă rezultate nesigure. Pasteur, Chamberland și Roux au hrănit 33 de oi cu lucernă stropită cu spori cărbunoși și amestecată cu corpi duri (spini, pleavă de orz), capabili să creeze soluții de continuitate pe mucoase și au observat cum chiar în aceste condiții severe numai 7 din ele s-au infectat. Alți experimentatori nu au reușit să infecteze, pe cale digestivă, nici cîinele, nici porcul. Animalele de laborator, atît cobaiul cît și iepurele și șoarecele, pot ingera cantități importante de spori, fără ca infecția să se producă, deși sporii administrați pe cale bucală trec din intestin în circulația generală. Într-adevăr, Hruska (1928), Boquet și Saenz (1934) îi izolează din cord de la cobai între a 2-a și a 8-a oră după ingestie. Animalele la care sporii circulă în organism nu se infectează decît atunci cînd sporii se pot fixa într-un țesut sensibil. Se observă astfel că animalele la care s-a făcut puncția cordului pentru a recolta sîngele în vederea însămînțării sale pot muri cîteva zile după hemocultură, cu un edem cărbunos la locul unde acul a străpuns pielea. La fel se produce o infecție cărbunoasă dacă pielea cobailor care au ingerat spori este scarificată, înțepată, contuzionată, în intervalul de timp în care se găsesc sporii în circulație. Injectînd, la aceste animale, ser fiziologic sub piele, se produce, de asemenea, la locul de injecție, un edem cărbunos.

Sporii cărbunoși introduși pe cale bucală se elimină în mare parte, ca atare, prin fecale. O transformare a sporilor în forme vegetative în traiectul gastrointestinal nu pare posibilă și, chiar dacă această transformare s-ar face, formele rezultate ar fi repede distruse de sucurile gastrice și cele intestinale. În cecum, după unele cercetări, sporii se conservă timp de 1 lună.

Prezența sporilor, în sîngele unui animal care a ingerat spori cărbunoși, nu-i pune viața în pericol decît dacă aceștia se localizează într-un țesut receptiv. Este foarte probabil că în condiții naturale animalele care consumă furaje infectate să prezinte sporemii, fără ca infecția să izbucnească în toate cazurile. Ea apare atunci cînd sporii găsesc ocazia de a pătrunde din sînge, într-un țesut care le permite germinarea. Această ocazie ar putea fi creată prin vaccinarea anticărbunoasă. Unele accidente de vaccinare a căror cauză nu a putut fi lămurită, și-ar găsi astfel o explicație.

Infecția prin inhalație. Doze masive de spori cărbunoși pot provoca, prin inhalație o infecție cărbunoasă la iepure. Sanarelli (1925), afirmă, într-adevăr, că 100 000 de spori insuflați în pulmon, fără a leza mucoasele, infectează regulat iepurele, ceea ce se explică prin faptul că sporii fiind prea numeroși macrofagele și microfagele din pulmoni nu-i pot îngloba pe toți ; unii din ei rămîn liberi, germinează, trec în sînge și produc septicemia cărbunoasă. Un număr mai mic de spori, 50 000 sau mai puțini, pot fi inhalați, fără ca animalul să se infecteze. Sporii sînt în acest caz, captați de fagocite și astfel incluși trec în circulația generală, fixîndu-se apoi pe diferite organe: splină, rinichi, ficat, peretele intestinal etc. Dacă în aceste organe în care se găsesc fagocite purtătoare de spori se injectează o substanță leucotoxică — arsenic, chinină, acid lactic, glucoză, peptonă, nucleinat de sodiu, sînge, lapte, apă distilată etc. — sporii sînt puși în libertate și infecția se produce. O pneumonie cărbunoasă cu hepatizație tipică se poate produce la animalele care au inhalat o doză submortală de spori dacă li se insuflă, în același timp cu sporii, o substanță care distruge leucocitele, punînd astfel sporii în libertate. Aceleași rezultate se obțin dacă concomitent cu inhalația sporilor se introduce și o substanță care paralizează activitatea fagocitelor.

Infecția pe cale conjunctivală, așa cum a arătat în special Aitoff (1922), dă rezultate negative la cobai, dar nu la șoarece. De asemenea, la animalele gestante bacilii nu traversează, de obicei, învelitorile și nu infectează embrionul. Culturile din cordul fetușilor, provenind de la cobaițe gestante și moarte de antrax, sînt, de cele mai multe ori negative.

Caracterul infecției experimentale la diverse specii animale

Șoarecele este socotit ca cel mai sensibil animal. Intr-adevăr tulpinile mult atenuate, inoculate în doze reduse, produc constant infecția. Se pot însă izola variante total apatogene chiar pentru acest animal, care servește, de altfel, ca test al apatogenității. O tulpină este declarată apatogenă cînd este incapabilă să omoare șoarecele în doze rezonabile — 0,1 — 0,5 ml dintr-o cultură în bulion. In general, asemenea tulpini sînt acapsulogene și nu produc edem la locul de inoculare. Tulpinile care păstrează capacitatea edemațiantă sînt încă patogene, deși nu se încapsulează în organism.

Doza activă variază în raport cu tulpina. Ea este foarte mică (1/10 000 000 — 1/20 000 000 dintr-o cultură de 24 de ore în bulion) pentru tulpinile de virulență plină și mai mare pentru tulpinile atenuate. Se observă însă că nu există un paralelism perfect între patogenitatea unei tulpini față de cobai și doza sa minimă mortală pentru șoarece. Astfel, se găsesc tulpini care deși total apatogene pentru cobai pot încă omorî șoarecii în diluție destul de mare, 1/10 000 ml cultură de 24 de ore în bulion, precum și tulpini, care, deși omoară cobaiul, nu ucid șoarecele decît în doze relativ mari, 0,1 ml dintr-o cultură în bulion de 24 de ore. Aceste diferențe se explică prin însușirile intrinseci ale diverselor tulpini. Primele tulpini capsulează în organism, dar nu produc edem la locul de inoculare, cele din a doua categorie produc edem local masiv la șoarece și cobai, dar sînt dotate cu o putere invazivă redusă. Tulpinile capsulate se pot deci înmulți în organismul șoarecelui în absența oricărei acțiuni pregătitoare pe care o exercită edemul cărbunos. Asemenea tulpini nu se pot înmulți la cobai, al cărui organism nu poate fi invadat decît după pregătirea lui de către secrețiile din edem.

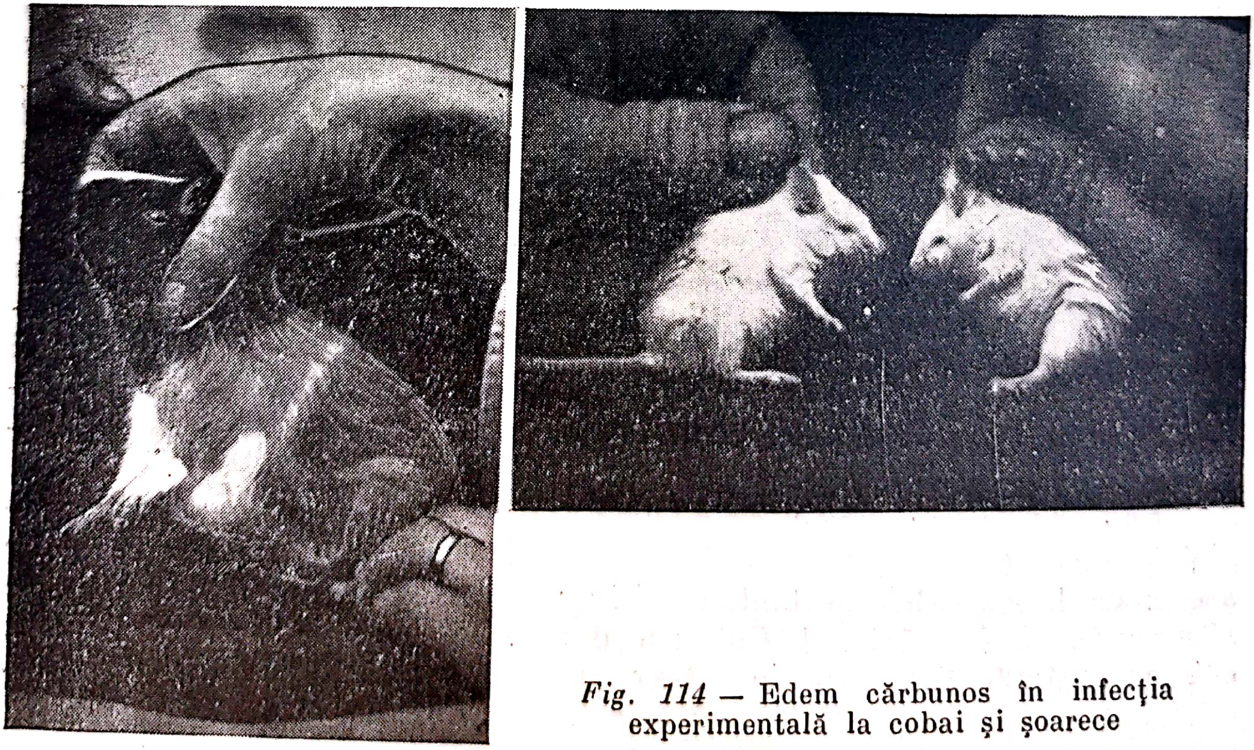


Fig. 114 — Edem cărbunos în infecția experimentală la cobai și șoarece

Poarta de intrare nu are o importanţă deosebită şi pot fi folosite, pentru infectarea şoarecelui, cele mai variate căi. Este de remarcat totuşi că tulpinile edematogene şi acapsulogene, în doze puţin active, pe cale subcutană, omoară constant şoarecele pe cale intracerebrală sau intrapleurală.

Administrarea culturilor pe cale digestivă dă rareori rezultate pozitive. In schimb, depunerea culturilor pe mucoasa conjunctivală produce infecţia la 50% din şoarecii astfel trataţi.

Durata infecţiei cărbunoase la şoareci variază în raport cu virulenţa tulpinii şi doza de cultură adiminstrată. Şoituz (1924), inoculînd la şoarece, paralel o tulpină atenuată şi alta virulentă, în aceleaşi diluţii, obţine următoarele rezultate :

Tabelul 51

Doza injectată (cultură în bulion de 24 ore)	Rezultat	
	Tulpina atenuată ore	Tulpina virulentă ore
10^{-1}	+ 58	+ 16
10^{-2}	+ 67	+ 37
10^{-3}	+ 70	+ 47
10^{-4}	+ 70	+ 56
10^{-5}	+107	+ 65
10^{-6}	Rezistă	+ 70
10^{-7}	—	+104

In general, dozele mari de germeni virulenţi omoară animalele înainte de 24 de ore, iar cele vecine cu doza minimă mortală într-un timp care poate depăşi, uneori, 2—3 zile.

La autopsierea animalelor moarte, leziunile constau din congestia organelor interne şi hipertrofia splinei. Edemul local nu este prezent decît în cazul inoculării tulpinilor atenuate şi cu o capacitate de invazie redusă. Bacilii se găsesc în sînge şi organe. Ei sînt numeroşi în splină, mai rari în ficat şi sînge. Capsula bacililor, mai ales a celor din ficat, este groasă şi se colorează bine după metoda Giemsa.

Şobolanul este rezistent faţă de acţiunea patogenă a bacilului cărbunos şi de aceea este puţin folosit în cercetările de laborator. Totuşi, tulpinile virulente îl infectează. Cornelson, Toma şi Constantinescu (1949) constată că din opt şobolani injectaţi cu 0,1 ml de cultură în bulion de 24 de ore au murit de antrax şapte între a 6-a şi a 16-a zi după infecţie. Mesrobeanu şi Slăvescu, (1942) constată că o tulpină care omora şoarecele în doză de 10^{-6}, dintr-o cultură de 24 de ore în bulion, ucidea şobolanul alb în doză de 1/1 000 pe cale subcutană şi 1/500 pe cale intraperitoneală. Aceeaşi autori observă că gălbenuşul de ou favorizează în mod net instalarea infecţiei cărbunoase la şobolan. Astfel, amestecurile de cultură (0,3 ml) şi emulsie de gălbenuş de ou (2,7 ml) produceau infecţia pe cale intraperitoneală chiar cînd se foloseau, pentru prepararea amestecului, diluţii de 1/1 000 000. In aceleaşi condiţii, amestecurile de cultură

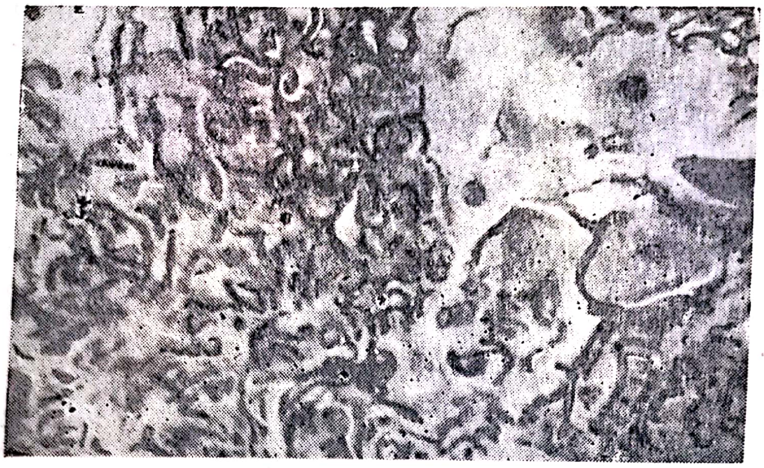


Fig. 115 — Bacillus anthracis

Secţiune prin ulcer stomacal cărbunos la cobai

şi ser fiziologic nu erau active decît atunci cînd se foloseau, pentru prepararea amestecului, diluţii de 1/10 şi 1/100 (suspensii din culturi pe agar). Moartea şobolanilor infectaţi cu amestec de cultură şi gălbenuş de ou survenea după 16—54 de ore, iar a celor injectaţi numai cu cultură după 3—5 zile. Gălbenuşul de ou favorizează deci infecţia şobolanului. Tulpinile virulente de cărbune se pot adapta organismului şobolanului şi prin treceri repetate, ajung să omoare constant acest animal, chiar cu doze mici, 10^{-4} ml de cultură de 24 de ore în bulion (Marica, comunicare personală).

Injecţiile intracerebrale sînt foarte severe şi animalele astfel injectate mor în 1—2 zile (Cornelson şi col., 1949).

Cobaiul, vine în ordinea sensibilităţii imediat după şoarece şi poate după spermofil ; într-adevăr el rezistă la acţiunea patogenă a unor tulpini atenuate, capabile încă să ucidă şoarecele.

Calea de administrare a germenilor poate influenţa instalarea şi evoluţia unor infecţii experimentale, în cazul folosirii bacililor atenuaţi, bacilii de virulenţă plină fiind activi pe orice cale parenterală.

Calea digestivă este improprie, ceea ce explică inexistenţa infecţiei naturale la această specie.

Permeabilitatea diverselor mucoase este variabilă. Depunerea culturii pe mucoasa conjunctivală nu produce infecţia (Aitoff, 1922), Mucoasa nazală este însă mai permeabilă pentru bacili şi 1/3 din cobaii cărora li se administrează cultura pe această cale mor de antrax. Moartea survine între 2 şi 20 de zile.

Injecţia subcutană a unor tulpini patogene produce cobailor o reacţie locală, care îmbracă aspectul unui edem cărbunos în cazul cînd tulpina este atenuată, sau cînd tulpina, deşi este virulentă, a fost injectată în doză mică. In general, reacţia locală este cu atît mai pronunţată cu cît infecţia are o evoluţie de mai lungă durată, minimum 2 zile. Bacilii virulenţi şi în doze mari produc moartea în scurt timp, 24—36 de ore, înainte ca leziunea locală să poată atinge dimensiuni palpabile. Durata evoluţiei variază de la 24 de ore la 7—8 zile sau chiar mai mult. La autopsia animalelor moarte se constată leziuni de septicemie. Bacilii sînt prezenţi în sînge şi organe.

Unele tulpini mucogene, deci cu germeni care capsulează chiar pe agarul simplu, pot produce la cobai o infecţie cu evoluţie atipică. Inocularea acestor germeni este urmată de o reacţie locală de dimensiuni reduse, care se constituie în primele 24—48 de ore și care se resoarbe în zilele următoare. Animalul pare salvat, dar uneori el moare după 10—16 zile, fără a prezenta vreo leziune la poarta de intrare. In schimb, organele interne au leziuni de cărbune și bacilii se observă microscopic în sînge. În plus, la aceste animale se găsesc leziuni necrotice și hemoragice pe traiectul tubului digestiv, în special pe mucoasa stomacală și cea a intestinului gros. În aceste leziuni bacilii sînt numeroși și capsulați.

Spermofilul (Citellus citellus) este receptiv și, după Bogdanov, el are aceeași receptivitate ca șoarecele. Doza de 0,1 ml de cultură de 24 ore în bulion administrată subcutan sau intraperitoneal, îl omoară în 3—4 zile. Aceeași doză îl omoară în 12—18 zile pe cale cerebrală. Animalele injectate subcutan nu prezintă edem la locul de inoculare, iar cele inoculate intraperitoneal nu au lichid în cavitate. Organele interne sînt însă congestionate și conțin mulți bacili (Cornelson și col.).

Dihorul (Putorius furo L), este receptiv și inoculat pe cale subcutană el face în 30—36 de ore, o infecție mortală. La autopsie, pe lîngă leziunile obișnuite, se observă o însemnată hipertrofie a splinei; organul depășește de 6—7 ori volumul normal. Bacilii sînt prezenți în mare număr în sînge și organe (Goret și Mariette, 1938).

Iepurele, în raport cu șoarecele și cobaiul, este mult mai rezistent. Tulpini atenuate, dar patogene pentru șoarece și cobai, pot fi inofensive pentru el. Totuși, unele tulpini, avînd un grad mai puțin însemnat de atenuare, pot produce infecția.

Poarta de intrare influențează instalarea infecției. Peritoneul ca și țesutul conjunctiv subcutan opun bacteridiei o rezistență însemnată, care nu poate fi învinsă decît de doze mari de bacili virulenți. Calea intradermică este aceea care trebuie folosită pentru determinarea virulenței tulpinii, ea dînd, pentru aceeași tulpină, rezultate constante de la o titrare la alta.

Doza minimă mortală variază în raport cu tulpina. Tulpinile de virulență plină sînt active în doză de 1/50 000—1/100 000 ml de cultură de 24 de ore în bulion injectată pe cale intradermică la iepuri, cu o greutate de 1 000—1 500 g.

Greutatea corporală a animalelor influențează doza minimă mortală.

Iepurii de iarnă, prezentînd frecvent deficiențe alimentare, sînt mai sensibili decît iepurii hrăniți cu verdeață în timpul verii.

Durata evoluției este condiționată de doza și virulența tulpinii și ea variază de la 24 de ore la cîteva zile. Astfel, într-o cercetare personală, patru iepuri inoculați respectiv cu 0,1 0,01, 0,001 și 0,0 002 ml de cultură în bulion de 24 de ore au murit respectiv după 16 ore, 16, ore, 3 și 4 zile.

Formarea edemului local este condiționată de aceiași factori ca și la cobai.

La autopsia animalelor moarte se găsesc leziuni congestive, splină mărită, sîngele necoagulat. Bacili capsulați sînt prezenți în sînge și organe.

Oaia este receptivă față de tulpinile cu virulență plină. Tulpinile atenuate nu omoară oaia decît ocazional. Probabil că infecția, în aceste cazuri, se grefează pe importante deficiențe organice.

Tulpinile virulente sînt active pe cale parenterală, în special calea dermică și cea subcutană. Ingestia sporilor cărbunoși dă rezultate inconstante.

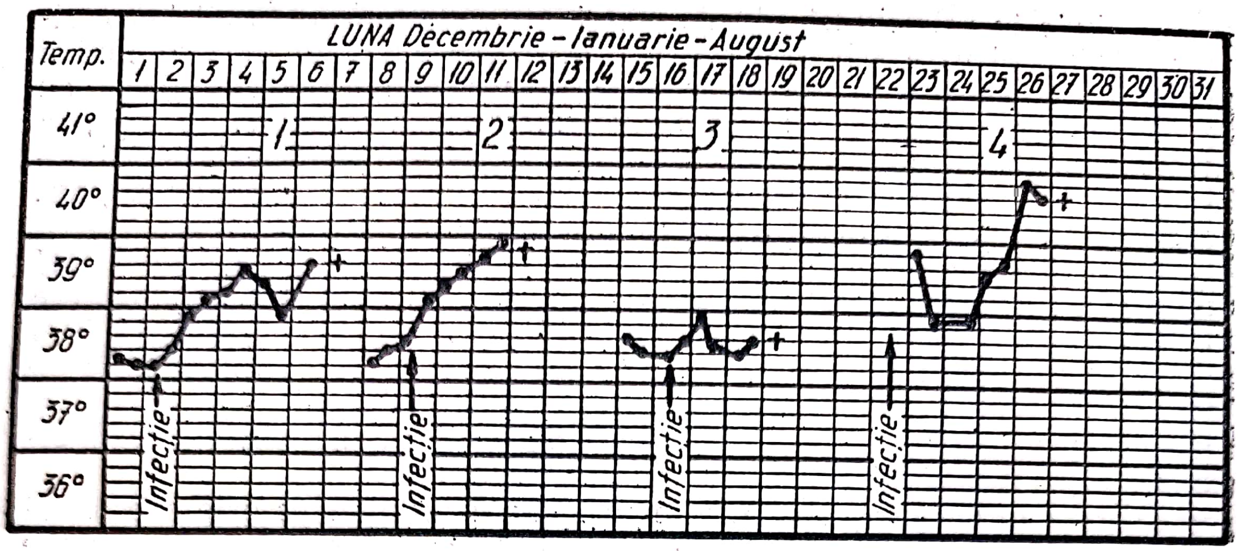


Fig. 116 — Curbele termice a patru oi infectate experimental cu *Bacillus anthracis* (1/5 000 ml cultură în bulion de 24 ore)

1; 2; 3 — oile au fost infectate în cursul lunilor decembrie — ianuarie; 4 — oaie infectată în luna august

Doza minimă mortală pentru tulpinile de virulenţă plină variază de la 1/1 000 la 1/5 000 dintr-o cultură în bulion de 24 de ore. Injecţia este urmată, uneori, de constituirea unui edem local, dar alteori animalul moare fără a prezenta o leziune locală vizibilă. Febra apare uneori scurt timp înainte de moarte, alteori ea precede sfîrşitul cu 24 de ore sau mai mult. Ea poate atinge 40—42°C, dar la unele animale nu trece de 40°C. Simptomele clinice nu au nimic caracteristic şi uneori nu se observă decît puţin timp înaintea morţii, o stare de abatere şi inapetenţă.

Animalele moarte prezintă leziuni congestive în organele interne, splina mărită, noroioasă, sîngele necoagulat. Bacilii sînt numeroşi în sînge şi mai ales în splină.

Capra, dintre erbivore, este animalul cel mai sensibil şi ea poate fi infectată chiar cu tulpini atenuate de tip Pasteur.

Calul se infectează, cu regularitate, pe cale intradermică, cînd se folosesc culturi virulente. Culturile atenuate, vaccinurile, nu produc infecţia decît foarte rar şi probabil la animale cu grave deficienţe fiziologice. Tulpinile virulente produc o infecţie mortală în doze relativ mici. Şoituz (1925) provoacă moartea unui cal vaccinat şi supus controlului imunităţii cu 0,3 ml de cultură în bulion. Boala a durat 6 zile. Edemul local a atins dimensiunea unui ou de găină. Starea generală nu a fost alterată. In tot timpul bolii animalul a fost subfebril şi numai în ajunul morţii temperatura a fost de 39,3°C. La autopsie s-au găsit leziuni de antrax şi bacili în organism. Popovici (1929) observă că dozele de 0,1—0,2 ml de cultură virulentă pot provoca la animalele insuficient vaccinate o infecţie cu evoluţie gravă, care nu retrocedează decît în urma intervenţiei cu ser. De regulă,

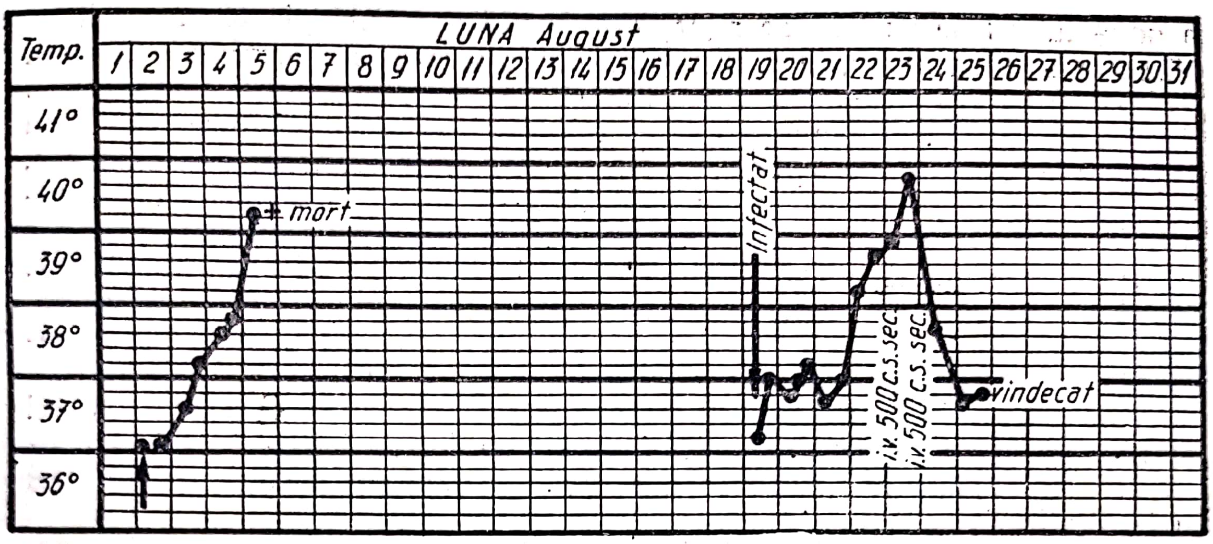


Fig. 117 — Curba termică în două cazuri de antrax experimental la cal

stînga — nu s-a făcut nici o intervenţie; evoluţia normală a bolii;
dreapta — animalul a fost tratat cu ser

primul semn al infecţiei îl constituie edemul local, care apare chiar a doua zi după injecţia culturii. El nu este însoţit, totdeauna, de febră şi de schimbarea stării generale. Aceste simptome, apar de obicei mai tîrziu cînd edemul ia proporţii mai însemnate. Se observă însă că unele animale, deşi au un edem enorm, nu sînt febrile : 38, 38,5°C. Temperatura este însă, de regulă ridicată, 39—40°C sau mai mult. Beliovsky relatează un caz de infecţie experimentală, în care edemul, format iniţial la locul de inoculare a culturii, s-a resorbit în 3 zile. Resorbţia a fost urmată însă de o puternică ascensiune termică, 42,2°C, pe care autorul o atribuie infecţiei cărbunoase şi care, de altfel, a cedat în urma injectării serului anticărbunos (1 400 ml).

Măgarul, deşi atît de apropiat, în scara zoologică, de cal, prezintă o rezistenţă deosebită faţă de infecţia cărbunoasă experimentală şi naturală. Varlam (1914), sub conducerea prof. Riegler, experimentînd pe 11 măgari, observă că nici chiar tulpinile foarte virulente nu produc o infecţie mortală la acest animal. Culturile au fost administrate per os (4 animale), subcutan (4 animale) şi intravenos (3 animale). Unul dintre aceste animale care au primit, per os, suspensia

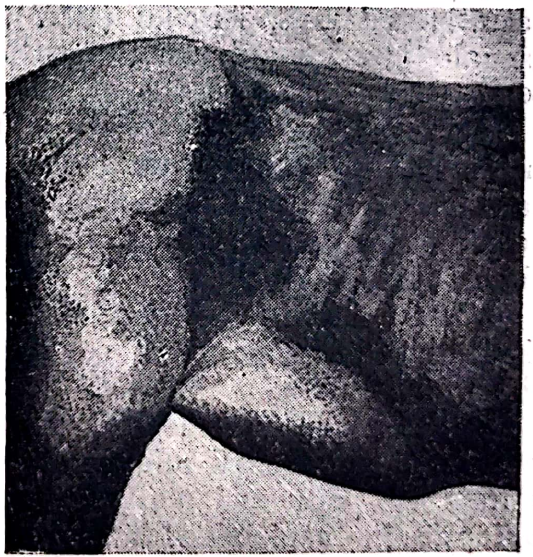


Fig. 118 — Edem cărbunos la un cal, în a patra zi după infecţia experimentală (după Viljoen şi col.)

a două tuburi de cultură pe agar, amestecată cu sticlă pisată, a murit de cărbune, în hipotermie, la 8 zile după administrarea materialului virulent. Animalele cărora li s-a administrat, per os, numai cultura cărbunoasă, fără sticlă pisată, nu au prezentat tulburări clinice. Cultura virulentă (tulpina folosită omoară iepurele cu 1/1 000 dintr-o ansă), administrată, la măgar, pe cale subcutană, în doză de 1—3 ml din suspensia unei culturi de 24—48 de ore, pe agar în 10—15 ml de apă fiziologică, produce o reacţie locală însemnată (edem păstos şi dureros) şi febră (39—40°C). Aceste simptome apar chiar a doua zi după inoculare (promptitudinea reacţiei locale şi generale explică rezistenţa acestui animal), dar se amendează în următoarele 3—4 zile, cînd animalul îşi reia aspectul obişnuit.

Inoculările intravenoase, cu doza de 1 ml din suspensia unei culturi pe agar în 20 ml de ser fiziologic, sînt urmate de febră (38—39°C) şi uneori de o schimbare a stării generale. Aceste simptome se amendează însă în 1—3 zile.

Boul s-a arătat, în încercările făcute de diverşi cercetători, mai rezistent decît celelalte ierbivore. In experienţele lui Pasteur, de la Pouilly-le-Fort, bovinele care au servit ca martore celor vaccinate şi care au fost injectate cu cultură virulentă nu au murit, dar au prezentat edeme masive la locul de inoculare, iar temperatura s-a ridicat cu 3°C deasupra celei normale. Observaţii accidentale au arătat însă că bovinele pot fi infectate experimental şi că, în cazul injecţiilor subcutane, infecţia este urmată de apariţia edemului local, febră şi alterarea stării generale. Boala poate dura 1 săptămînă sau mai mult. Vindecări se pot observa destul de frecvent, chiar cînd nu se recurge la mijloacele de tratament obişnuite.

Pisica prezintă o marcată imunitate naturală faţă de bacilul cărbunos. Ea poate fi totuşi infectată experimental dacă se folosesc tulpini virulente şi doze masive de germeni. In aceste condiţii, cele mai diverse căi dau rezultate pozitive. Teclu (1927), Dragomir (1930) infectează pisicile pe cale intravenoasă (1 ml de suspensie dintr-o cultură pe agar în 10 ml de ser fiziologic), intracardiac (1 ml), intraperitoneal (1 ml), subcutan (0,2 — 1 ml), intramuscular (0,2—0,5 ml), intracerebral (0,2—0,5 ml) şi intratraheal (1 ml). Administrarea bacililor sau sporilor pe cale bucală a fost, în cercetările lui Teclu, constant negativă. Dragomir (1930) nu obţine rezultate pozitive administrînd culturi virulente pe cale intradermică şi în doze de 0,3 — 0,4 ml.

Boala durează 1—13 zile, în medie 3 zile. Multe pisici infectate mor după 2 zile de la administrarea culturii. Pisicile, injectate intracerebral, mor de regulă, în mai puţin de 24 de ore.

Boala se manifestă prin inapetenţă totală şi stare generală rea. Febra apare a doua zi după infecţie şi creşte pînă în apropierea morţii. Ea poate atinge 41°C sau mai mult. Animalele mor în hipotermie, 34 — 36°C. La autopsie, în cazul injecţiilor subcutane sau intramusculare, se constată un edem gelatinos la locul de inoculare. In toate cazurile sîngele este negru, asfixic şi necoagulabil. Splina poate fi mărită, dar uneori are dimensiuni normale, deşi conţine foarte mulţi bacili. Reacţia seroprecipitării, frotiurile şi culturile sînt constant pozitive. Teclu observă că în organele pisicilor moarte de antrax, bacilii se prezintă adeseori sub formă rotundă, cocoidă și capsulată.

Cîinele posedă o rezistență naturală accentuată, pe care însă germenii virulenți, administrați în doze mari și pe căi propice o pot învinge. Alături de imunitatea naturală caracteristică speciei se mai întîlnesc și cazuri de rezistență individuală. Astfel, în aceleași condiții de experimentare se constată, de regulă, că animalele tinere sînt mai sensibile decît cele adulte, cele de rasă mai sensibile decît cele de rase comune și, după unii autori, cîinii negri sînt mai sensibili decît cei de alte culori. Infecția experimentală a cîinelui a fost realizată de numeroși cercetători.

La noi în țară, Wellmann (1930), sub conducerea prof. Riegler, a cercetat în amănunt sensibilitatea cîinelui față de infecția cărbunoasă, folosind diverse tulpini și cele mai variate căi de administrare a materialului infecțios. Rezultatele obținute de autor sînt rezumate în tabelul 52.

Tabelul 52

Numărul animalelor folosite	Calea de infecție	Doza administrată	Durata bolii	Rezultat	
				Morți de cărbune	Rezistă
15	Intravenoasă	0,1-5 ml	3-4 zile	12	3
11	Subcutană	0,1-5 ml	2-17 zile	8	3
8	Intradermică	1-5 ml	2-19 zile	3	5
5	Intramusculară	1-5 ml	1-2 zile	3	2
6	Bucală	1-2 capsule de gelatină pline cu spori	—	—	6
3	Intraperitoneală	3 ml	—	—	3
2	Intratraheală	3-5 ml	4-6 zile	2	—
1	Intrapulmonară	2 ml	2 zile	1	—
1	Scarificație	Un pătrat de 5/10 mm	—	—	1
2	Intrarahidiană	0,5-1 ml	2-4 zile	1	1
2	Subdurală și intracerebrală	0,25-0,5 ml	1 zi	2	— —
1	Intraoculară	—	4 zile	1	—
1	Intrarenală	2 ml	2 zile	1	—
1	Intracardiacă	—	2 zile	1	—

Boala experimentală se manifestă prin simptome generale și uneori locale. Simptomele generale constau din febră, 40—42°C și inapetență, cele locale din necroză și edem al pielii și țesutului conjunctiv subcutan. Wellmann observă și o formă nervoasă de antrax, care se manifestă prin paralizii totale sau localizate la membre, în special la cele posterioare, contracții și pierderea sensibilității. Inoculările subcutane sînt în regulă urmate de constituirea unei tumorete, care se deschide după cîteva zile, lăsînd în urma ei un ulcer care are aspectul pustulei maligne la om. Atît inoculările intravenoase, cît şi cele intracerebrale produc o boală cu o evoluţie rapidă şi caracter septicemic.

La autopsia animalelor moarte se găsesc leziuni hemoragice şi congestive. Sîngele, în general, nu este coagulat. Frotiurile, culturile şi reacţia de seroprecipitare sînt pozitive.

Păsările sînt foarte rezistente. Culturile virulente nu pot omorî, pe cale subcutană sau intramusculară, găina normală. Calea cerebrală dă însă rezultate pozitive la toate speciile de păsări, aşa cum au arătat, recent, Cornelson şi colaboratorii săi (1949). Autorii constată că în timp ce culturile virulente nu pot omorî pe cale intramusculară porumbelul, cioara, stanca şi găina, ele pot omorî aceste păsări, în mod constant, dacă sînt administrate pe cale intracerebrală. Pe această din urmă cale, chiar culturile atenuate produc un proces morbid cu evoluţie lentă, dar totuşi mortală. Boala, în cazul injecţiei intracerebrale, durează mai puţin de 24 de ore, şi din punct de vedere clinic şi anatomo-patologic este o meningoencefalită bacteridiană. Bacilii se înmulţesc în ţesutul nervos în care au fost introduşi, producînd o necroză locală, înconjurată de o zonă hemoragică, dar nu invadează ţesutul nervos din jur. În schimb, ei pătrund şi se înmulţesc în ventriculii cerebrali şi meninge.

Păsările, prezentînd un însemnat dezechilibru fiziologic, pot fi infectate şi pe alte căi, aşa cum a arătat Pasteur. Puii de 1 zi au un grad oarecare de receptivitate şi, injectaţi subcutan, cu doze de 0,1 ml de cultură de 24 de ore în bulion pot în parte muri, prezentînd la autopsie o septicemie cărbunoasă. Durata bolii este de cîteva zile.

Vrabia face excepţie de la regula generală căci spre deosebire de celelalte păsări, ea este foarte sensibilă faţă de acţiunea patogenă a bacteridei. Ea este chiar mai sensibilă decît şoarecele.

Broaştele şi animalele cu sînge rece, în general, sînt socotite refractare, dar, prin anumite artificii experimentale, rezistenţa lor poate fi înfrîntă, aşa cum rezultă din numeroase cercetări (Sabrazés şi Colombot, 1894, Gibier). Cornelson, Toma şi Dragomir (1950) arată că broaştele ţestoase, injectate intraperitoneal sau intracerebral cu bacili cărbunoşi virulenţi, în doze masive, nu mor dacă rămîn la temperatura camerei (17 — 18°C), dar dacă sînt trecute, chiar după 106 zile, la temperatura de 37°C, mor de cărbune, prezentînd mase de bacili în sînge şi organe. Cînd se fac injecţii intracerebrale se produce o meningită, cu prezenţa unor mase compacte de bacteridii nu numai în ţesutul cerebral, dar şi în sînge şi organe.

INFECŢIA CARBUNOASA NATURALA

Arie geografică. Bacilul cărbunelui este răspîndit pe toată suprafaţa pămîntului şi infecţia cărbunoasă apare, în consecinţă, la animalele receptive din toate ţările. Datele statistice publicate în anul 1947 o semnalează, într-adevăr, în Australia, China, Indochina, India, Insulele Filipine, Irak, Tunisia, Egipt, Alger, Uniunea Sud-Africană şi toate ţările din cele două Americi. În Europa, boala este răspîndită mai cu seamă în ţările din bazinul mediteranean şi în cele din sud-estul european, dar ea apare, este drept, într-o proporţie mai redusă, şi în ţările nordice, ca Anglia, Olanda, Belgia, Suedia, Norvegia, Finlanda. În Anglia, de exemplu, au existat, în 1953, 609 focare, în care au murit 489 de bovine, 140 de porci şi 2 cai. În aceeaşi ţară s-a diagnosticat în 1952, 559 de cazuri de antrax, la porc. De asemenea, tot în Anglia şi în parte şi S.U.A. s-a constatat, după 1950, o creştere a frecvenţei antraxului la om.

Constituţia pămîntului, condiţiile climatice şi de exploatare a solului şi animalelor, natura asistenţei sanitare etc. influenţează apariţia infecţiei şi explică faptul că frecvenţa bolii nu este pretutindeni aceeaşi.

Frecvenţa antraxului în R.P.R. Boala este, desigur, instalată de foarte mult timp pe teritoriul Republicii Populare Romîne, dar primele indicii oficiale asupra existenţei ei nu le avem decît de la începutul secolului al XIX-lea. În 1808, Divanul Munteniei (vezi istoria Romînilor de V. A. Urechia, vol. XI) se sezisează de apariţia antraxului la oi şi decretează o serie de măsuri de combatere. Semnalări sporadice, precum şi descrieri ale bolii au continuat apoi să apară în tot cursul secolului al XIX-lea. O asemenea descriere o găsim de exemplu, în cartea lui Ion Huboţi (1842). Începînd cu secolul al XX-lea, o dată cu dezvoltarea învăţămîntului veterinar, apar lucrări noi şi din ce în ce mai complete cu privire la răspîndirea bolii, caracterul infecţiei şi al agentului ei etiologic. Motaş publică, în 1902, un studiu asupra bolilor infecţioase la animale în perioada 1889 — 1900, în care se ocupă şi de antrax. El arată, chiar la acea dată, că, în timp de 11 ani, antraxul a fost semnalat în majoritatea judeţelor ţării de atunci (Oltenia, Muntenia, Moldova şi Dobrogea) şi a produs moartea a 1 918 animale (774 de bovine, 158 de cabaline, 648 de oi şi capre, 338 de porci). Boala avea deci, chiar de atunci, un caracter generalizat, dar cu toate acestea oficialitatea nu atribuia pierderilor cauzate de antrax o importanţă prea mare şi, socotind Romînia ca fiind mai puţin infectată decît alte ţări, nu se ocupă de metodele de vaccinare. Analiza mai îndeaproape şi mai ştiinţifică a cauzelor mortalităţii animalelor din ţară a arătat, însă, că antraxul este una din bolile care contribuie în cea mai mare măsură la menţinerea unei cifre ridicate de pierderi. Asistăm, întradevăr, în ciuda dezvoltării serviciilor veterinare şi a introducerii metodelor specifice de prevenire, la o creştere continuă a procentului de mortalitate, datorit antraxului. Astfel, în Romînia dinainte de 1918, cazurile de antrax au fost repartizate pe ani, după cum urmează (Ciucă) :

1906	234 cazuri
1907	281 „
1908	446 „
1910	558 „
1912	1 083 „
1915	724 „

Numărul cazurilor de antrax creşte, în cifre absolute, şi după 1918, astfel cum observă Lupu.

1936 — 2 417 cazuri de antrax pentru 20 940 236 animale receptive
1938 — 16 221 „ „ „ „ 19 667 127 „ „

In anul 1938, cifra mortalităţii animale prin antrax a fost cea mai mare, în anii care urmează celui de al doilea război mondial cifrele se reduc în modul următor:

1946 — 4 299
1947 — 6 190

Există regiuni mult infectate, cum sînt cele din Cîmpia Dunării, iar altele mai puţin infectate, cum sînt regiunile de deal.

Frecvenţa sezonieră. In unele ţări se observă că antraxul este mai frecvent în lunile de vară decît în cele de iarnă. Astfel, în ţara noastră, ca şi în Grecia, Albania, Ungaria şi Spania, cele mai numeroase cazuri se semnalează în cursul lunii august, iar în Australia şi alte ţări din emisfera sudică, în cursul lunii ianuarie care de altfel este pentru acea emisferă cea mai călduroasă lună a anului. Iată după Lupu, care a fost în Romînia numărul curţilor infectate, în diverse luni ale anului, în perioada 1934—1938:

ianuarie	543	iulie	4 162
februarie	620	august	5 548
martie	850	septembrie	4 120
aprilie	1 182	octombrie	2 026
mai	2 126	noiembrie	914
iunie	2 947	decembrie	817

Numărul cel mai mare de curţi infectate a fost în luna august, care este deci luna cea mai favorabilă transmiterii şi evoluţiei infecţiei. Acest fapt reiese şi din alăturatul tabel, în care este dat pe luni numărul cazurilor de antrax diagnosticate, la diverse specii animale, în 1940 şi 1943.

Tabelul 53

Numărul cazurilor de antrax diagnosticate de laboratorul veterinar de diagnostic din Bucureşti, în anii 1940 şi 1943

Specia	Anul	Ianuarie	Februarie	Martie	Aprilie	Mai	Iunie	Iulie	August	Sept.	Oct.	Noiembrie	Decembrie
Bovine	1940	28	20	21	28	57	57	72	106	110	30	28	8
	1943	18	22	30	23	52	55	75	98	64	40	20	18
Ovine	1940	4	0	0	5	13	13	9	5	6	4	1	1
	1943	0	0	2	0	3	2	6	4	3	4	0	0
Cabaline	1940	7	16	9	9	16	13	27	36	26	16	11	5
	1943	2	5	0	6	5	13	12	18	5	1	1	4
Porcine	1940	1	0	1	0	1	2	3	2	1	1	1	0
	1943	2	0	3	0	2	4	1	3	2	3	0	1

Frecvenţa mai mare în lunile de vară este legată de factori multipli. Astfel, seceta şi uscăciunea favorizează în mod deosebit ingestia şi inhalaţia sporilor din pămînt şi deci apariţia cazurilor de antrax. Este foarte probabil că în cursul lunii august şi, în general, în timpul verii, unele insecte hematofage intervin în transmiterea infecţiei. De asemenea, un factor favorizant principal este reprezentat prin temperatura ridicată care se înregistrează în acest sezon. Unele date experimentale au dovedit într-adevăr, că animalele purtătoare de spori fac o infecţie clinică dacă sînt puse la temperatura de 42°C (Sanarelli, 1943).

In alte ţări nu se constată însă diferenţe de frecvenţă în raport cu diversele luni ale anului, ceea ce se explică prin climatul acestor ţări şi modul de exploatare a animalelor (exploatarea la grajd) etc. Astfel se petrec lucrurile în Bulgaria, Franţa, Germania, Danemarca, Norvegia etc.

Specii natural receptive. Ierbivorele sînt dintre animalele domestice cele mai sensibile, urmate fiind de porcine şi apoi de carnasiere. Dintre ierbivore, după datele statistice din ţara noastră, bovinele par a da cel mai important procent de mortalitate, fiind urmate îndeaproape de ovine şi apoi de cabaline. În 1947, de pildă, pierderile provocate de antrax pe întreg teritoriul R.P.R. se repartizează, pe specii, după cum urmează:

bovine	3 148
ovine	2 829
cabaline	169
porcine	44

Cifrele de mai sus, mai ales cînd sînt raportate la numărul total al animalelor din specia respectivă, arată că infecţia cărbunoasă este mult mai frecventă la bovine decît la ovine. Este foarte probabil că această frecvenţă mai mare la bovine decît la ovine este mai mult aparentă decît reală; ea apare în statistici, dar nu este şi în realitate. Reiese într-adevăr, din unele observaţii personale, că în ţara noastră mor de antrax mai multe oi decît bovine şi constatarea că în statistici acest lucru nu apare se datoreşte faptului că multe din oile moarte de antrax nu sînt înregistrate. Numărul cazurilor de antrax neînregistrate la oaie pare să fie foarte însemnat, în raport cu cel de la bovine, din cauza relativ redusei valori economice a acestor animale. În acest sens, trebuie să remarcăm că în ţinuturile unde este posibilă o supraveghere sanitară mai atentă procentul de mortalitate a ovinelor, din cauza antraxului, depăşeşte cu mult pe cel al bovinelor. Astfel, în fostul judeţ Cluj, în anul 1947, s-au înregistrat 575 de cazuri de antrax la oaie, 87 de cazuri la bovine şi 1 caz la cabaline. La fel, în fostul judeţ Ialomiţa, tot în 1947, s-au identificat 527 de cazuri de antrax la oaie, 59 de cazuri la bovine, 29 de cazuri la cabaline şi 6 cazuri la porcine. Chiar raportînd aceste cifre la numărul total al indivizilor din specia respectivă se constată că oile dau un procent mai mare de mortalitate decît bovinele. Se observă însă că în alte ţinuturi, care, deşi au oi, antraxul este inexistent la această specie. Fostul judeţ Bihor, de exemplu, în cursul anului 1947, a avut 110 bovine şi 3 cai morţi de antrax, dar nu a avut nici 1 oaie moartă din cauza acestei infecţii. Acest fapt nu a împiedicat însă ca în vara anului 1950 să apară în turma de oi a unui sat o epizootie care a omorît peste 150 de oi din cele 260 existente.

Antraxul natural la porc este destul de rar, iar la păsări excepţional. Cazuri totuşi s-au semnalat la găină, gîscă, vultur şi raţă.

Carnasierele domestice, ca şi cele sălbatice, ţinute în captivitate, se pot uneori infecta. Goret şi colaboratorii (1947) au descris, de exemplu, un caz la tigru. S-au descris de asemenea cazuri de infecţie spontană la leu, panteră, jaguar, vulpe. Kriucikov (1953), semnalează infecţii spontane la lupi şi elani şi afirmă că aceste animale pot constitui mijloace şi căi de difuziune a infecţiei. Demetrian (1900) a întîlnit un caz de antrax spontan la lup.

Înregistrarea cazurilor de antrax la cîine şi pisică nu se face decît accidental şi anume cînd aceste animale ajung să fie cercetate sau autopsiate într-un laborator.

Infecţii cărbunoase s-au semnalat, în afară de carnasiere, şi la alte animale sălbatice ca urs, bursuc, vizon, iepure de cîmp etc.

Materia infecţioasă. Bacteridia cărbunoasă se conservă mult timp în pămînt. Unele soluri sînt foarte infectate şi bacilii pot fi puşi în evidenţă prin metode bacteriologice. Annaghiev (1954), de exemplu, izolează bacilii din 79 de probe de sol, din totalul de 750 de probe cercetate. Este dovedit astăzi că, în anumite terenuri, sporii pot germina şi formele vegetative rezultate se pot înmulţi.

Bacilii din sol constituie sursa principală de infecţie în special pentru ierbivore. În Arhiva veterinară, din anul 1904, p. 200, de exemplu, este relatat faptul că în grajdurile unui regiment de cavalerie, în urma schimbării pămîntului de pe linia grajdului cu un pămînt dintr-o localitate contaminată, au apărut, la caii unităţii, 12 cazuri de antrax în 15 zile.

Prezenţa bacililor şi capacitatea lor de a se înmulţi în terenurile infectate au fost demonstrate, prin metode bacteriologice, de diverşi cercetători. Astfel, Pokşişevski şi Golovin (1932) obţin culturi pozitive din pămîntul unor păşuni din R.S.S. Carelia, păşuni pe care cazurile de antrax au fost semnalate în mod constant timp de 50—70 de ani, în urmă. Terenul a fost cercetat, în ce priveşte prezenţa bacililor cărbunelui, timp de 4 ani (1927—1930), şi anume în cursul lunilor mai, iunie, iulie şi august, dar rezultate pozitive nu s-au obţinut decît în anii şi în lunile în care au apărut cazuri de antrax la animale. Autorii constată că rezultatele cu privire la prezenţa bacililor în sol devin pozitive cu 2—4 săptămîni înainte de apariţia antraxului, se menţin pozitive atît cît durează enzootia şi apoi devin negative. Aceste rezultate nu s-ar putea explica decît printr-o înmulţire a germenilor în pămînt. Enzootia de antrax este precedată deci, după autori, de înmulţirea germenilor existenţi în sol. Această multiplicare este condiţionată de o serie de factori, printre care cei mai importanţi sînt: temperatura, umiditatea şi pH-ul, aşa cum reiese şi din tabelul 54.

Bacilii cărbunoşi circulă în pămînt o dată cu apa. Experienţele lui Bogdanov au dovedit că sporii acestor bacili ajung în profunzime şi ies de aici o dată cu apa. Tot el a mai constatat că într-o apă sterilizată sau nesterilizată, bogată în substanţe organice şi provenind din mlaştini sau pîraie, cu o adîncime de 3—5 cm bacilii cărbunelui vegetează aproape ca în bulion. În urma acestor constatări, autorul admite că bacilii cărbunoşi se pot înmulţi în apele mlaştinilor puţin adînci cînd temperatura este convena-

Tabelul 54

Prezența bacilului cărbunelui în sol în relație cu apariția cazurilor de antrax la animale (după Pokșișevski și Golovin)

Timpul în care s-a cercetat localitatea	Localitatea	Umiditatea medie pe lună în procente	pH-ul solului	Suma temperaturii la suprafața solului	Momentul începutului și sfîrșitului enzootiei de antrax	Cantitatea precipitațiilor atmosferice mm	Cercetarea bacteriologică a solului + = pozitiv pentru Bac. anthracis = negativ pentru Bac. anthracis.
Mai 1927	Satul Ewgora	95,0	6,5	240,8	De la 15/7 la 4/8	—	—
Iunie 1927	„	89,0	6,2	445,6		48,1	+
Iulie 1927	„	80,0	6,0	567,0		40,0	+
August 1927	„	78,0	5,7	448,0		—	—
Mai 1929	Satul Ladwa	90,0	6,0	280,0	De la 17/7 la 20/8	—	—
Iunie 1929	„	87,0	5,8	470,0		43,7	+
Iulie 1929	„	92,0	6,4	597,0		100,0	+
August 1929	„	93,0	5,9	448,0		68,4	—
Mai 1930	Satul Towdia	89,0	6,0	308,0			—
Iunie 1930	„	87,0	5,7	490,0	De la 28/7 la 19/8	Nu s-a înregistrat	—
Iulie 1930	„	81,0	5,3	518,0			+
August 1930	„	77,0	5,1	461,0			+

bilă. Ploile prea abundente diluează apa, îi scad temperatura, îi măresc adîncimea și împiedică, după autor, vegetarea. Din contra, ploile rare sînt favorabile multiplicării bacililor. Minett și Dhanda (1942) constată, la fel că bacilii se dezvoltă în apă, la temperatura de 20°C.

Stamatin, Lungu, Isopescu, Popa, Bica Popii și Drăghici (1950—1954) au arătat că în solurile umede și la temperatura de 25°C se produce o multiplicare a bacililor răspîndiți o dată cu sîngele animalelor infectate cu antrax. Bacilii găsesc deci în sîngele uscat, pe suprafaţa unui strat de pămînt umed un mediu convenabil de înmulţire. Pe suprafaţa peliculei de sînge se dezvoltă uneori, în aceste condiţii, colonii vizibile cu ochii liberi, asemănătoare celor ce se găsesc pe un mediu solid obişnuit. Pămîntul sterilizat este mai favorabil multiplicării decît cel nesterilizat, însă o multiplicare se poate produce şi în acesta din urmă, contrar celor afirmate de Minett şi Dhanda (1941). Înmulţirea bacililor în sol, în condiţii naturale, depinde desigur de o serie de factori, ca: umiditatea, lumina, temperatura, flora microbiană etc. Temperatura şi umiditatea sînt, probabil factori esenţiali. Astfel, bacilii depuşi o dată cu sîngele infectat, pe pămînt sterilizat, şi menţinuţi la 4°C, dispar după 10—14 zile. Aceeaşi soartă o au de obicei bacilii din sîngele infectat şi răspîndit pe pămînt uscat (praf), menţinut la 25°C. În acest din urmă caz dispariţia bacililor se face încă şi mai repede (6 zile).

Bogăţia solului în compuşi organici şi în calciu constituie un factor important în menţinerea bacililor în sol; de asemenea influenţează şi pH-ul, vegetarea bacililor fiind în general mai accentuată în solurile neutre sau uşor alcaline decît în cele acide (Glenn şi Stein 1956).

Dat fiind numeroşii factori care influenţează multiplicarea bacililor în sol, nu s-ar putea încă preciza, în toate cazurile, care este importanţa acestei multiplicări în îmbogăţirea terenurilor în material virulent. Bacilul cărbunelui, în afară de sol, se înmulţeşte în organismul animalelor sensibile, care îi oferă pe lîngă condiţii optime de temperatură şi de nutriţie un adăpost faţă de acţiunea antagonistă a altor germeni. Forma vegetativă care rezultă din spori invadează organismul şi se înmulţeşte. Proporţiile în care bacilii cărbunoşi se înmulţesc în organismele sensibile sînt enorme. Popovici (1950) a constatat, de exemplu, că 1 ml de sînge, provenind de la un cobai mort de antrax, conţine 50—1 690 milioane de germeni vii, iar 1 g din splina unui bou mort de antrax, 1—4 miliarde. Sîngele de capră cărbunoasă conţine după Minett şi Dhanda, 22—370 milioane de germeni pe 1 ml. Diversele jetaje eliminate de un animal bolnav pot conţine şi ele pînă la 1 milion de germeni pe 1 ml. Ne putem uşor imagina cîţi germeni vii conţine întregul cadavru al unui cobai, al unei oi sau al unui bou şi în ce proporţii s-au înmulţit bacilii într-un organism, cînd ştim că numai cîţiva spori pot produce o infecţie mortală la cobai, oaie şi chiar bou. Bacilii se elimină din organism, în timpul vieţii, prin, materii fecale (Ciucă şi Tenea, 1909), urină, ca şi prin sîngele rezultat din hemoragiile anale sau nazale. Eliminarea prin lapte, în ultima fază a bolii, pare posibilă. După moarte, dacă cadavrul este deschis, germenii se răspîndesc masiv în mediul înconjurător. Abandonarea cadavrelor şi sfîşierea lor de către carnasiere înlesnesc o largă difuzare a germenului. Formele vegetative, căci numai aceste forme se găsesc în organism, ajunse în contact cu aerul, se multiplică şi sporulează dacă temperatura şi umiditatea sînt favorabile.

Procentul de forme vegetative care se transformă în spori nu se poate desigur preciza, dar el variază, în mod sigur, în limite foarte largi, de la un caz la altul. Sporularea se face într-o proporţie redusă sau nu se face de loc la temperaturi mai mici de 14°C. În pieile recoltate de pe cadavrele cărbunoase, în timpul iernii, sporii pot lipsi, dar la temperaturi convenabile, aşa cum a arătat Ciucă şi Stoicescu (1909), precum şi Bachrach și Pachomov (1933), sporularea se face cu energie în toate straturile pielii, începînd de a doua zi după jupuire. La temperaturi scăzute, sporularea nu are loc, dar fenomenele de putrefacție fiind puțin accentuate, formele vegetative se pot conserva pînă la 4 săptămîni sau chiar, uneori ceva mai mult. Dacă, în acest interval de timp, se produce o ridicare a temperaturii mediului ambiant, transformarea acestor bacili în spori poate avea loc. În timpul verii, temperatura este favorabilă transformării în spori, dar putrefacția materiilor organice se face cu energie, ceea ce duce la distrugerea unui număr mare de bacili. În aceste condiții se poate spune, în mod sigur, că nu toți bacilii dintr-un cadavru sporulează. Sporii însă o dată formați se conservă un timp îndelungat în sol, unde se pot transforma, în condiții favorabile, în bacili, și sub o formă sau alta, spori sau bacili, constituie izvorul principal de infecție. Infecția cărbunoasă, la ierbivore și porcine, este, într-adevăr, totdeauna de origine telurică sau hidrică ; ea nu se transmite direct de la animalul bolnav la cel sănătos, neavînd deci la aceste specii caracter contagios. La om și carnasiere infecția nu este decît excepțional de origine telurică și ea se transmite, de regulă, direct de la animalul bolnav. Omul, de exemplu, se poate infecta autopsiind sau manipulînd carnea sau organele animalelor moarte sau sacrificate din cauza cărbunelui, iar carnasierele consumînd carnea infectată.

În concluzie, materia infecțioasă pentru ierbivore este reprezentată prin germenii care se găsesc în sol și bogăția germenilor în sol condiționează frecvența antraxului la aceste specii. Solul se poate îmbogăți în germeni în două feluri, și anume :

a) multiplicarea in situ a germenilor existenți ;

b) multiplicarea germenilor în organismul animalelor receptive și răspîndirea lor din, și cu aceste organisme în sol.

Acest al doilea mod de îmbogățire pare mai important ca primul. Se constată, într-adevăr, că acolo unde s-au luat măsuri severe pentru a împiedica difuziunea germenilor prin animalele bolnave și prin cadavre, s-a ajuns la o reducere simțitoare a cazurilor de antrax. Această constatare ne permite să afirmăm că bacilul, în condiții naturale, nu rezistă la infinit în sol, și fără aportul reprezentat prin cadavrele cărbunoase el dispare. La această dispariție concurează numeroși factori, ca lumina, antagonismul microbian exercitat asupra formelor vegetative care rezultă din spori în condiții favorabile de umiditate și temperatura, acțiunea sterilizantă a sistemului radicular a unor plante. În ceea ce privește importanța acestui din urmă factor, amintim cercetările lui Kosarev (1956) din care reiese că în condiții experimentale, germenii dispar din solurile în care se cultivă ceapă sau porumb. Arhipov, citat de Kosarev (1956), a cercetat din acest punct de vedere 32 de plante și a găsit că unele distrug bacilii din sol, altele sînt indiferente, iar altele le înlesnesc multiplicarea.

Poarta de intrare. În condiții naturale, bacilii cărbunelui se pot infiltra în organism pe cele mai variate căi. Pe cale cutanată, bacilii nu se pot infiltra în țesuturi decît în cazul cînd pielea prezintă o soluție de continuitate provocată mecanic sau prin înțepătura insectelor hematofage. Infecții prin leziuni mecanice se întîlnesc mai ales la oamenii care manipulează carne, piei sau alte produse animale infectate. O mică eroziune proaspătă este suficientă pentru pătrunderea germenului și producerea infecției. Eroziunile produse de încălțăminte sau de căciuli, fabricate din piele infectată pot duce la același rezultat. Pentru ierbivore, infecția cutanată este mult mai rară; se întîlnesc însă și la ele cazuri de antrax cu edeme externe, cînd, foarte probabil, germenul a fost introdus printr-o soluție de continuitate a pielii, provocată prin înțepăturile insectelor hematofage sau prin mușcătura unor animale domestice sau sălbatice. Într-un caz personal am putut să observ dezvoltarea la un cal a unui edem cărbunos care a avut ca punct de plecare o eroziune cutanată produsă prin mușcătura făcută de un alt cal.

Rolul diverselor insecte în transmiterea infecției cărbunoase a făcut obiectul a numeroase cercetări. Încă din 1899, Nuttal și, în 1914, Mitzmain, au incriminat tabanidele ca fiind agenți importanți de transmitere a bolii. Aceste supoziții au fost confirmate, prin cercetări experimentale de Morris (1918) și de Nieschultz (1928 și 1939). Acest din urmă cercetător obține în condiții experimentale rezultate pozitive cu următoarele specii de tabanide: *Tabanus rubidus*, Wiedemann; *Tabanus striatus*, *Fabre*; *Chrysops flaviventris*, Macquart; *Stomoxys calcitrans*, Linné; *Stegomya fasciata*, Fabre, precum și cu unele specii de muște (genul *Musca*) sau țînțari (genul *Anopheles*). Olsufiev și Lelep (1935), Kraneveld și Djaemoedin (1940) au confirmat în totul lucrările lui Nieschultz asupra rolului tabanidelor în transmiterea cărbunelui. În cercetările lor, Olsufiev și Lelep arată că speciile *Chrysona pluvialis*, *Tabanus solstitialis*, *Tabanus montanus*, *Tabanus autumnalis* și *Tabanus bovinus* pot transmite infecția de la cadavrele cărbunoase la animalele normale și că bacilii trăiesc în trompa speciilor de tabanide citate pînă la 5 zile. Seu și Minett (1944) au arătat că *Musca domestica*, precum și *Calliphora erythrocephala* pot transmite experimental antraxul la capră, cînd ele sînt puse întîi pe organe cărbunoase și apoi pe pielea scarificată a animalului. Smirnov și Kamalov (1951) au dovedit, mai departe, că mușcăturile de anchilostome (*Necator americanus*) pot infecta hamsterul (*Mesocricetus auratus brandti*, Nahring, 1890) dacă animalul are spori pe suprafața pielii. Autorii au badijonat pielea hamsterului cu o suspensie de spori și apoi, pe pielea astfel tratată, au pus anchilostomele. Prin leziunile produse de anchilostome, germenii au pătruns în țesuturi, realizîndu-se astfel infecția. Asemenea condiții se pot desigur realiza și natural. Reiese din aceste date rolul pe care îl pot avea insectele și unele specii animale în difuziunea infecției cărbunoase.

Ierbivorele și carnivorele se infectează, de cele mai multe ori, prin germenii pe care îi iau o dată cu alimentele sau cu apa. Infecția se poate produce în aceste cazuri, printr-o eroziune a mucoasei bucale. Glosantraxul care se întîlnește frecvent la porc, cîine și chiar la cal este o consecință a pătrunderii bacililor printr-o leziune a mucoasei bucale. Este posibil ca această formă să se dezvolte și fără o eroziune, ceea ce se poate întîmpla atunci cînd mari cantități de germeni ajung în amigdale.

Infecția poate fi datorită și pătrunderii germenilor din cavitatea bucală în căile respiratorii și apoi în pulmon sau pătrunderii lor direct în căile respiratorii. S-a admis, mult timp, în urma experiențelor întreprinse de Koch și colaboratorii săi, că antraxul la ierbivore este în majoritatea cazurilor, de origine digestivă. Koch a reușit, într-adevăr, să infecteze oaia pe această cale, introducînd sporii direct în rumen, cu ajutorul unui cilindru de cartof în care includea o cantitate de spori. Procedînd astfel, el socotea că evită infecția gurii și a căilor digestive superioare. După Koch, sporii astfel introduși nu vor vegeta în stomac din cauza reacției sale acide, dar vor face acest lucru în intestin, care are o reacție alcalină, și de unde, prin plăcile lui Peyer și foliculii limfatici, vor pătrunde în organism. Ipoteza, așa cum a fost formulată de Koch, se pare că nu corespunde realității. Sanarelli (1925) a constatat, în experiențe de control, că în primul rînd atît lichidul gastric, cît și cel intestinal nu permit germinarea sporilor nici in vivo și nici in vitro. Sporii, este drept, pot ajunge în intestin și de aici în circulația generală, dar, în aceste condiții, ei nu produc infecția decît în cazul cînd pot ajunge, printr-o poartă de intrare artificială, în intimitatea țesuturilor receptive (Hruska, 1928, Boquet și Saenz, 1933). Crearea unor asemenea porți prin contuzii, mușcături, injecții etc. este posibilă și deci edemele cărbunoase externe pot avea și o origine hematogenă. Se pare încă că infecția cărbunoasă se datorește rareori sporilor care trec din intestin în circulația generală și de multe ori ea este o infecție de origine pulmonară. Sporii pot fi inhalați în pulmoni o dată cu aerul inspirat. În sprijinul acestei ipoteze vine constatarea că în lunile secetoase cazurile de antrax sînt foarte frecvente la oaie, animal care inhalează, din cauza felului său de deplasare și grupare, o cantitate enormă de praf. O dată cu praful, oaia poate inhala și o cantitate însemnată de spori, care pot să rămînă în pulmoni și să producă infecția. Sporii luați o dată cu alimentele pot să treacă și ei din cavitatea bucală în pulmoni, dînd naștere la infecția cărbunoasă. Această trecere, așa cum observă Sanarelli (1925) era posibilă de altfel și în experiențele lui Koch. Într-adevăr, Koch a experimentat pe oaie, care este un rumegător și care deci aduce alimentele — și în experiența citată și cartoful cu sporii — din rumen în gură; aceștia din urmă se răspîndesc în timpul rumegatului în cavitatea bucală putînd astfel pătrunde în căile respiratorii, de unde trec în circulația generală, de aici ajungînd și putînd da localizări intestinale. Frecvența leziunilor intestinale, a făcut pe mulți cercetători să admită că antraxul este o infecție de origine intestinală. Leziunile din intestin pot avea însă, așa cum am mai spus, o origine hematogenă, peretele intestinal avînd, pare-se, un tropism deosebit pentru acest microb și constituind o cale de eliminare a sa din organism. Tropismul bacilului pentru peretele intestinal se explică și prin originea embrionară a acestuia din urmă; el are aceeași origine ca și pielea, care, după cum s-a văzut, este un țesut foarte receptiv.

Pulmonul pare să fie o importantă poartă de intrare a sporilor bacililor cărbunelui, ceea ce rezultă de altfel și din observațiile făcute asupra antraxului la om. Scărmănătorii de lînă, care inhalează o dată cu praful ce se eliberează în timpul operației de scărmănare sporii din lîna animalelor moarte de cărbune, contractă un antrax pulmonar cu o evoluție foarte gravă. Antraxul pulmonar, cu sfîrșit septicemic, se întîlnește uneori și la porc, după cum au arătat, printre alții, Cernăianu și Popovici.

Patogenie. Bacilul cărbunelui ajuns pe o cale oarecare într-un ţesut receptiv începe să se multiplice. Multiplicarea şi secreţiile care însoţesc acest proces provoacă tulburări locale în special circulatorii, care duc la constituirea unui edem gelatinos caracteristic infecţiei. Leziunea locală este totdeauna prezentă, chiar dacă nu se descoperă la autopsie, ea constituind ceea ce am putea numi : afectul primar. Dimensiunile edemului variază în raport în special cu virulenţa tulpinii şi rezistenţa animalului.

Tulpinile foarte virulente produc un edem de dimensiuni reduse şi moartea în 24—48 de ore la cobai, iar cele de virulenţă scăzută produc, la acelaşi animal, edeme mari, moartea survenind tardiv, 5—6 zile sau mai mult. Animalele — cobaii — imunizate fac edeme mari chiar cînd sînt inoculate cu tulpini virulente. Din edem bacilii se răspîndesc în organism pe cale limfatică şi sanguină. Difuziunea pe cale limfatică este demonstrată de faptul că în mod constant ganglionii aferenţi porţii de intrare se tumefiază scurt timp după constituirea afectului primar. Difuziunea pe cale sanguină este demonstrată de datele după care hemoculturile sînt uneori pozitive mult timp înainte de moarte.

Răspîndirea în organism pe aceste două căi începe să se facă foarte probabil scurt timp după instalarea procesului infecţios, însă germenii vărsaţi, fiind puţin numeroşi, dispar din sînge. Această dispariţie pare a fi datorită mai puţin puterii bactericide a sîngelui şi mai mult activităţii sistemului reticulo-endotelial. Pe măsură ce afectul primar se amplifică, numărul germenilor prezenţi în edem şi de aici vărsaţi în sînge creşte, astfel ca la un moment dat sistemul reticulo-endotelial nu-i mai poate capta pe toţi. Aceştia rămîn liberi în sînge şi încep să se multiplice, producînd septicemia. O modificare prealabilă a sîngelui în cursul revărsărilor incipiente de germeni, în sensul de a-l face mai apt cultivării germenului, nu este exclusă, dar nu pare demonstrată. De altfel, sîngele normal şi total al tuturor speciilor animale cultivă in vitro bacteridia, ceea ce înseamnă că el nu posedă factori activi faţă de bacteridie şi nu are nevoie de o modificare care să-i facă mai convenabil culturii germenului.

În faza septicemică, numărul germenilor prezenţi în sînge este enorm şi moartea survine în special ca o consecinţă a tulburărilor de oxigenare a sîngelui. Inhibiţia centrilor respiratori ca o urmare a acestor tulburări este foarte probabilă. În cazurile de glosantrax moartea survine în urma obstruării căilor respiratorii şi ea se poate produce înaintea fazei septicemice.

ANTRAXUL LA DIVERSE SPECII ANIMALE

Antraxul spontan, la animale, poate avea o evoluţie supraacută, acută şi mai rar subacută sau cronică ; clinic se poate prezenta sub forma de antrax intern septicemic, şi antrax extern, cu tumori. Evoluţia supraacută, apoplectică, se întîlneşte frecvent la oaie şi mai rar la bou sau cal. Simptomele, în acest caz, apar cu 1—2 ore înainte de moarte şi se traduc prin febră, dispnee, hemoragii nazale, bucale şi anale. Antraxul acut este întîlnit la bovine, cabaline, oi, porci şi durează 1—5 zile. El se manifestă, la toate speciile, prin febră ridicată, lipsa poftei de mîncare, nelinişte, cordul cu bătăi puternice și sunet metalic. Edemul extern, cînd există, este situat deseori în regiunea buco-faringiană, dar poate fi localizat și în alte regiuni ale corpului. În general, așa cum a observat și Ion Huboți (1842), animalele cu o bună stare de întreținere cad mai frecvent victime infecției în raport cu animalele mai prost întreținute. Este de semnalat absența totală a infecției la animale cașectice.

Moartea animalului este precedată de grave tulburări respiratorii și, uneori, de diaree cu sau fără sînge. Antraxul, la cal, se manifestă, de multe ori, prin colici violente, așa cum a arătat, printre alții, Riegler (1892—1893).

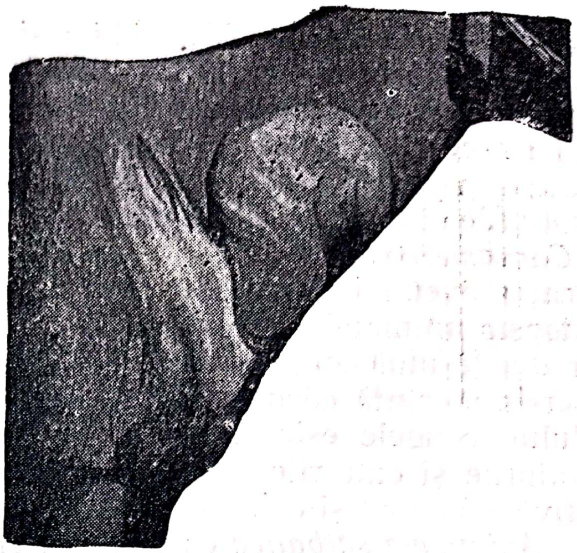


Fig. 119 — Edem cărbunos la cal (după Viljoen și col.)
Infecție naturală

Bovideele sînt mai rezistente decît calul și oaia, și de aceea pot face forme cronice de antrax, care durează cîteva săptămîni, și se manifestă prin edeme masive, febră și slăbirea pînă la cașexie. Infecții afebrile au fost descrise de diverși cercetători. Motaș și Riegler (1902) au descris o asemenea infecție la un bou de 4 ani. Boala a durat 8 zile. La autopsie, s-au găsit, în organe, pe lîngă bacili cărbunoși, și numeroși streptococi. Autorii consideră că aceștia din urmă, prin acțiunea antagonistă pe care au exercitat-o asupra bacilului cărbunos, au prelungit evoluția bolii și i-au modificat aspectul clinic.

Antraxul la *porc* se manifestă prin febră și tulburări generale. Animalul bolnav poate prezenta un edem extern, situat, de regulă, în regiunea gîtului. Tulburările respiratorii sînt foarte grave, ceea ce face, deseori, ca mucoasele să fie cianotice și pe piele să apară pete roșii-vinete (Motaș, 1906. Popescu, 1906. Iriminoiu, și Mezei, 1937). Cernăianu (1922) a descris o enzootie la purcei de lapte.

Procentul de mortalitate, printre animalele bolnave, la principalele specii domestice este de 88,9 pentru cal, 92,76% pentru bovine, 93,1% pentru ovine, 75,99% pentru porcine (Lupu).

Cîinele se infectează consumînd carne cărbunoasă și de aceea infecția se localizează de regulă, în regiunea laringo-faringiană, unde se formează un edem. Infecția cărbunoasă la cîine poate fi asociată cu cea streptococică (Stamatin, 1936). Cazurile de antrax spontan la cîine au fost semnalate în țara noastră de către Riegler și Ciucă, 1917), Ionescu (1922), Apostoleanu și Ionescu (1923), Stamatin (1936), Dima și colaboratorii (1947).

Pisica se infectează consumînd carnea infectată a animalelor moarte de antrax. La pisică, infecțiile spontane par a fi mai rare decît la cîine; astfel, la Facultatea de medicină veterinară din București, în intervalul 1927—1947, nu au fost diagnosticate decît cinci cazuri, două cazuri de Teclu în 1927 și trei cazuri de Dima, Vasiliu și Pavel, 1947. In cele trei cazuri, descrise de acești din urmă cercetători, boala a durat 2—6 zile, s-a manifestat prin disfagie și dispnee, iar la autopsia a două din ele s-au constatat, pe lîngă necoagulabilitatea sîngelui, congestii, echimoze și edeme gelatinoase, situate în jurul vaselor coronare, aortei, traheii, bronhiilor și colonului etc. Frotiurile și culturile din toate organele au fost pozitive.

Carnasierele de menajerie — leul, tigrul etc. — se pot infecta consumînd carne provenind de la animalele cărbunoase. Boala are o evoluție acută. La autopsia animalelor moarte se constată leziuni congestive, injectarea vaselor din țesutul conjuctiv subcutan și din seroasele splanhnice. Uneori, cadavrele prezintă edeme gelatinoase, situate mai ales în regiunea capului și gîtului. Sîngele este necoagulat. Splina este mărită, cu pulpa difluentă. Frotiurile și culturile sînt pozitive. Reacția de seroprecipitare poate fi negativă (Goret și col. 1947).

Animalele sălbatice ca elanul (ierbivor înrudit cu cerbul), lupii, iepurii, se pot infecta și pot constitui izvoare de infecție pentru animalele domestice. Kriucikov (1953) citează o enzootie care a avut o asemenea origine. Autorul a autopsiat opt cadavre de elan și la toate a diagnosticat antrax.

Păsările nu se infectează spontan decît excepțional și în literatură au fost descrise cîteva cazuri la găină, gîscă, rață și vultur. Rațele, în special, par a se infecta mai frecvent, judecînd după numărul cazurilor întîlnite și descrise.

Infecția la păsări se produce în urma consumului cărnii infectate sau consumului apei provenind din tăbăcării. Animalele sînt găsite moarte la 5—7 zile după ingestia materialului infecțios. La autopsie se pot găsi edeme gelatinoase în regiunea laringo-faringiană. Organele interne sînt congestionate, sîngele necoagulat. Splina poate fi normală sau hipertrofiată, noroiasă. Bacilii se găsesc în toate organele, dar sînt mai numeroși în sînge decît în splină. Culturile sînt constant pozitive.

Modificări anatomice. Cadavrele animalelor cărbunoase intră repede în putrefacție. Edemele gelatinoase se pot găsi în țesutul conjunctiv subcutan, în regiunea laringo-faringiană, mai ales la porc, cîine, cal, sau în cavitățile seroase, în special în jurul rinichilor. Vasele din țesutul conjunctiv subcutan sînt injectate.

Splina este de regulă mărită, noroioasă. Secționată, lasă să se scurgă conținutul care este negru, noroios. Leziunea splinei este caracteristică, dar nu permite totdeauna diagnosticul precis al antraxului, deoarece, pe de o parte, leziuni asemănătoare se pot întîlni și în alte stări morbide, iar, pe de altă parte, la unele animale moarte de antrax splina poate avea aspectul normal. La porc, splina poate prezenta infarcte hemoragice proeminînd la suprafața organului și avînd uneori mărimea unui ou de găină.

Sîngele este necoagulat, asfixic, negru, de unde numele de antrax (cărbune în limba greacă) sau cărbune care i-a fost dat bolii; această leziune a sîngelui este frecventă, dar nu patognomonică.

Pulmonul este congestionat și edemațiat. La porc, se pot întîlni, și în acest organ, infarcte hemoragice și chiar pneumonii cărbunoase.

Ficatul și rinichii sînt congestionați.

Mucoasa intestinală poate prezenta puncte hemoragice sau ulcere necrotice; pereții intestinului pot fi infiltrați cu lichide, edemațiați.

Ganglionii limfatici sînt hipertrofiați și edemațiați, mai ales cei din jurul edemelor cărbunoase.

Creierul și meningele sînt congestionate.

Diagnosticul, clinic și anatomo-patologic. Diagnosticul, în timpul vieții, se face prin examen clinic și bacteriologic (frotiuri din edeme, și culturi din sînge sau edeme). Examenul clinic poate rar permite un diagnostic precis, antraxul putînd fi confundat cu alte stări morbide, cum sînt pasteurelozele, cărbunele emfizematos la bovidee, anemia infecțioasă acută la cal, infecțiile streptococice, babesiozele, colicile și anasarca la cabaline, rujetul, pasteureloza și pesta la porc. Datele anatomo-patologice, la fel, nu dau totdeauna indicații precise.

Antraxul la om

Date epidemiologice. Antraxul la om este, în enorma majoritate a cazurilor, o infecție de origine animală, căci omul nu se infectează decît excepțional cu sporii care se găsesc în pămînt, ci numai cu formele vegetative sau sporii care se găsesc în produsele de origine animală, cum sînt carnea, pielea, lîna. Laptele, recoltat de la animale, bolnave în faza septicemică a bolii, ar putea conține bacili și deci constitui de asemenea un izvor de infecție pentru om. Legătura dintre antraxul la animale și om este ilustrat și de datele statistice care arată că există un raport numeric, în general, de 1/3 între infecția umană și cea animală. La noi în țară, după Lupu, fiecărui caz de antrax la om îi corespund 4, 8 cazuri la animale și unui deces la om îi corespund 27,5 animale moarte de antrax. Protopopescu (1934) găsește următoarele raporturi numerice între antraxul la animale și om: în 1932, la 4 096 de cazuri mortale la animale corespund 313 decese umane, iar în 1933 la 4 041 de cazuri mortale la animale corespund 343 de decese umane.

Mortalitatea și morbiditatea umană datorită antraxului sînt însemnate. Astfel, după datele centralizate de Lupu, în perioada dintre 1934—1938, au existat, în Romînia, 10 760 de îmbolnăviri, cu 1 705 decese. Morbiditatea și mortalitatea pentru 100 000 de locuitori au fost, în acea perioadă, cea consemnată în tabelul 55.

Este de remarcat că în 1938, cînd în țară au fost cele mai multe cazuri de antrax la animale, se constată și cele mai ridicate cifre de morbiditate și mortalitate la om. De altfel, se mai constată, în același sens și tot din datele culese de Lupu, că frecvența sezonieră a antraxului la animale, coincide cu frecvența antraxului la om. Astfel, pentru 4 ani (1935-1938), în luna august s-au înregistrat 5 548 de curți cu animale infectate și 2 260

Tabelul 55

Anul	Morbiditatea pentru 100 000 locuitori	Mortalitatea pentru 100 000 locuitori
1934	6,3	1,2
1935	9,0	1,6
1936	10,0	1,7
1937	11,6	1,8
1938	18,7	2,3

de îmbolnăviri la om, iar în luna ianuarie, în aceeași perioadă, 543 de curți infectate și 332 de îmbolnăviri la om. Paralelismul între infecția animală și umană este deci perfect.

În ceea ce privește repartiția pe vîrste și pe sexe, din datele culese tot de Lupu rezultă că antraxul este mai frecvent la bărbați ca la femei, la adulți ca la copii; din 1474 de decese umane înregistrate în anii 1935—1938, numai 95 au fost la copii pînă la 4 ani. Repartiția pe sexe a celor 1474 de cazuri este următoarea:

976 bărbați
498 femei

Antraxul este mai frecvent în mediul rural (926 de cazuri din 1474) decît în mediul urban (548 de cazuri din 1474). Raporturi asemănătoare găsește și Protopopescu (1934) pentru anul 1932: 103 cazuri în mediul urban și 210 în mediul rural.

Infecția interumană este rară și accidentală. Se citează cazul unei mame care, avînd pustula malignă la buză, a transmis infecția copilului prin sărut. Infecțiile de laborator sînt, în schimb, destul de frecvente și mulți din tehnicienii care au lucrat, timp mai îndelungat, cu culturi virulente, au făcut, în cele din urmă, infecția. Ea se realizează aproape exclusiv numai cu tulpini virulente. Kaweh și Entessar (1947) au descris totuși două cazuri de infecție accidentală umană cu tulpini atenuate.

Simptome și leziuni. Clinic, antraxul la om evoluează, de cele mai multe ori, sub formă de pustulă malignă și, mai rar, sub formă pulmonară, intestinală sau cerebrală.

Leziunea cutanată (pustula malignă) se poate găsi în cele mai variate regiuni ale corpului, dar localizările în regiunile descoperite, adică la cap, gît, mîini și picioare, sînt cele mai frecvente.

Antraxul pulmonar este întîlnit mai frecvent la oamenii care lucrează în industria lînii, unde manipularea acestui produs poate duce la inhalarea unor cantități considerabile de spori. Infecția evoluează ca o pneumonie cărbunoasă gravă. Bacilii se găsesc în spută.

Antraxul intestinal evoluează clinic ca o enterită febrilă, gravă, adeseori mortală. Evoluția sa se apropie clinic de a holerei. La autopsie se găsesc hemoragii și ulcere necrotice în intestin, precum și edemațierea pereților intestinali (edem gelatinos) (Ionescu-Mihăești și Popescu, 1936).

Pe lîngă formele pulmonare, intestinale și cutanate de antrax, (pustulă malignă), s-au descris și localizări cerebrale, care, clinic și anatomo-patologic, au caracterul unor meningoencefalite. Localizarea cerebrală poate fi o complicație a unei pustule maligne, ca într-un caz descris de Babeș, în 1905, sau a unui antrax intestinal, dar poate apărea, dintr-o dată, fără nici o altă manifestare clinică, ca în două cazuri descrise de Slătineanu și colaboratorii (1939). Infecția, în acest din urmă caz, pare că se face pe cale nazală. Ea apare, de regulă, la oamenii care manipulează lîna sau alt produs uscat şi care au deci ocazia să inspire o cantitate importantă de spori. Aceştia ajung din cavităţile nazale în meninge. Localizarea cerebrală poate avea însă şi o origine hematogenă.

Clinic, antraxul cerebral se manifestă prin violente dureri de cap, trismus, convulsii epileptiforme, cianoza feţei, spume la gură. Boala poate evolua supraacut (Claisse şi Pestel, 1947). Bolnavul poate fi afebril. Moartea survine în comă. La autopsie se găsesc leziuni hemoragice pe meninge şi în creier, în special în substanţa cenuşie. Histologic, Babeş, în cazul pe care-l descrie, găseşte, pe lîngă leziuni hemoragice, o îngroşare marcată a pereţilor vasculari şi a meningelor, datorită unei proliferări a elementelor locale, mai ales a endoteliului vascular. Se pot găsi însă şi infiltraţii cu limfocite şi polinucleare. Lichidul cefalorahidian poate fi sanguinolent.

Bacilii se găsesc în abundenţă în spaţiile limfatice din meninge, creier şi teaca nervului optic. Nu se găsesc însă în lumenul vaselor cerebrale. Ei se izolează în stare pură, din creier, dar culturile din sînge şi organele interne pot fi negative.

Diagnosticul antraxului după moarte. Diagnosticul post-mortem constituie o problemă complexă şi nu este totdeauna uşor de rezolvat : rezolvarea justă interesează atît sănătatea oamenilor şi animalelor, cît şi economia agricolă. Nu trebuie să se pună în comerţ produse infectate, pentru că se periclitează viaţa oamenilor şi a animalelor, dar economic nu este să eliminăm de la consum produse animale preţioase, pe baza unor examene superficiale. În scopul unui diagnostic exact al cărbunelui la cadavre sau produse de origine animală, se recurge la mijloace de cercetare bacteriologice. În unele cazuri, un simplu examen microscopic este suficient, în altele coroborarea tuturor mijloacelor de cercetare ne poate înşela. Procedeele folosite pentru diagnostic variază în raport cu materialul supus examenului şi cu starea acestui material.

Examenul bacteriologic. În cadavrele proaspete ale animalelor moarte de cărbune, bacilii sînt de obicei numeroşi şi prezenţi în toate organele. Un frotiu colorat după metoda Giemsa pune în evidenţă bacilii cărbunoşi capsulaţi, avînd forma caracteristică.

Frotiurile, în cazul cînd se dispune de cadavrul întreg, se fac în ordinea preferinţei, din leziunea locală, splină, ficat, sînge, rinichi etc. Frotiurle din măduva osoasă nu se pot uşor interpreta. În cazul cînd se trimit spre examinare mase musculare sau piele, se caută un vas cu sînge, din care se face frotiul. Prezenţa bacililor, în număr mare şi în forma caracteristică, este, şi în acest caz, o indicaţie sigură de diagnostic. Lipsa bacililor din organe nu este tot atît de doveditoare ca prezenţa lor, căci bacilii pot fi absenţi în frotiul din sînge şi splină şi animalul să fi fost totuşi bolnav şi să fi murit de cărbune. Cazuri cu bacili puţini sînt rare la animalele (ovine, bovine, cabaline) care au murit în urma infecţiei, dar le întîlnim destul de des la animalele sacrificate de necesitate, atunci cînd, bineînţeles, sacrificarea s-a făcut înainte ca bacilii să fi pătruns masiv în sînge, precum şi la unele specii animale (porc, cîine) la care antraxul evoluează, deseori, ca o infecţie locală. In organele porcilor sacrificaţi sau chiar morţi din cauza antraxului, bacilii pot fi uneori foarte rari. Ii căutăm şi ii găsim, cînd se autopsiază cadavrul întreg, în leziunea locală, edem şi ganglionii aferenţi, în infarctele hemoragice din splină, pulmon etc. In toate cazurile, un examen microscopic negativ, chiar pentru organe proaspete, nu poate exclude infecţia cărbunoasă şi de aceea este neapărat necesar ca el să fie completat cu un examen cultural şi numai dacă acesta este negativ, infecţia cărbunoasă poate fi eliminată. Insămînţările se fac, în acest caz, abundent. Mediile folosite sînt bulionul şi agarul. Rezultatul culturilor se citeşte definitiv după 24—48 de ore; uneori însă, chiar după 7—10 ore la 37°C, cultura este vizibilă, mai ales în bulion. Culturile făcute din măduva oaselor dau rezultate mai sigure decît frotiurile din acest ţesut. Osul cu măduvă este, de aceea, din punct de vedere al diagnosticului, un organ preţios. El prezintă importanţă şi prin faptul că în comparaţie cu organele splanchnice este mai tardiv invadat de germenii de putrefacţie, şi permite, în consecinţă, mai frecvent izolarea bacilului în stare pură.

Pe cadavre sau organe intrate în putrefacţie, diagnosticul se face cu mult mai greu. Bacilii de putrefacţie au invadat, în acest caz, ţesuturile şi, pe măsură ce aceştia se înmulţesc, bacilii cărbunoşi se răresc, şi în cele din urmă dispar. Examenul microscopic poate uneori pune în evidenţă cîţiva bacili sau cîteva capsule goale, care sînt revelatoare pentru un ochi experimentat. Uneori însă, acest examen este complet negativ, fără ca el să permită totuşi să se tragă vreo concluzie asupra diagnosticului. Culturile din asemenea organe sînt şi ele, de cele mai multe ori, negative. Mediul lichid sau agarul cultivă germenii de putrefacţie, dar bacilii cărbunelui, chiar cînd se găsesc în organe sînt, de cele mai multe ori, împiedicaţi să se dezvolte de flora de putrefacţie. Se recomandă, în acest caz, ca însămîţările să nu fie prea abundente şi numărul tuburilor însămînţate să fie cît mai mare. Mediile solide — agarul — sînt singurele care pot da rezultate, şi uneori, într-adevăr, se întîmplă ca printre coloniile germenilor de invazie post-mortem să apară şi cîteva colonii de cărbune. Examenul acestor colonii trebuie făcut cu mare atenţie, deoarece antracoizii formează pe agar colonii asemănătoare cu cele ale bacilului cărbunos. Coloniile de antracoizi este drept, nu au aspect frizat, caracteristic coloniei de cărbune, dar acest caracter este înşelător. Spre deosebire de bacilii cărbunoşi, antracoizii sînt mobili şi puternic hemolitici, dar examenul acestor caractere este uneori greu de făcut; cel mai sigur mijloc de deosebire îl constituie examenul patogenităţii. Dacă o colonie conţine bacili cărbunoşi, inocularea ei la şoarece sau depunerea ei pe pielea lezată a cozii acestui animal îi va provoca moartea în 24—48 de ore, cu prezenţa bacililor capsulaţi în organele interne şi sînge. Antracoizii nu produc nimic asemănător.

Culturile, ca şi examenul microscopic, pot fi negative atunci cînd putrefacţia organelor este foarte avansată. In aceste cazuri, unii autori recomandă, în vederea izolării bacilului cărbunos, distrugerea germenilor de putrefacţie nesporulaţi, prin fenol. In acest scop, materialul de examinat

Tabelul 56

Metodele folosite în laborator pentru diagnosticul antraxului din cadavre şi rezultatele ce se pot obţine

Felul examenului	Rezultate posibile în raport cu natura şi starea organului examinat				
	Organe de animal sacrificat din cauza antraxului	Organe proaspete de animal mort de antrax	Organe putrefiate de animal mort de antrax	Piele proaspătă de animal mort de antrax	Piele uscată de animal mort de antrax
Examen microscopic (coloraţie Giemsa)	±	+	—	+	0
Examen cultural	+ (Însămînţare abundentă)	+	—	+	+
Examen serologic	—	+	+ În special din splină	+	+
Examen experimental (inoculare şoarece prin scarificare)	—	+	∓	+	0

Legenda: — = negativ; + = pozitiv; ∓ = negativ sau pozitiv; 0 = nu se practică

Rezultatele indicate în tabelul 56 se obţin de obicei, dar nu totdeauna; ele sînt în funcţie de numeroşi factori: astfel cele din coloana a III-a depind de gradul de alterare a organului, iar cele din coloana I-a de momentul sacrificării. În organele unui animal sacrificat în agonie, de exemplu, toate probele vor fi pozitive şi se vor obţine aceleaşi rezultate ca şi în cazul organelor proaspete, provenite de la animal mort de antrax.

se recoltează de pe suprafaţa organelor şi în general din regiuni care au stat în contact cu aerul atmosferic, şi în care, deci, sporularea bacililor s-a putut produce. Materialul recoltat se amestecă cu o soluţie 1—2% de fenol şi după 1 oră se fac însămînţări şi eventual inoculări animalelor de experienţă. Se pot obţine rezultate pozitive prin acest procedeu atunci cînd, bineînţeles, materialul conţine spori de cărbune. Tratarea cu fenol poate fi înlocuită prin încălzirea materialului patologic, timp de 15 minute, la 65°C.

Examenul serologic. În mod curent, diagnosticul antraxului din organe putrefiate se face prin examen serologic, care poate descoperi această infecţie într-un procent ridicat de cazuri. Metoda — şi în aceasta constă marea ei valoare — dă un răspuns, atunci cînd alte procedee se arată neputincioase. Reacţia este pozitivă chiar din organele care se găsesc într-o stare înaintată de putrefacţie, ceea ce se explică prin faptul că substanţa

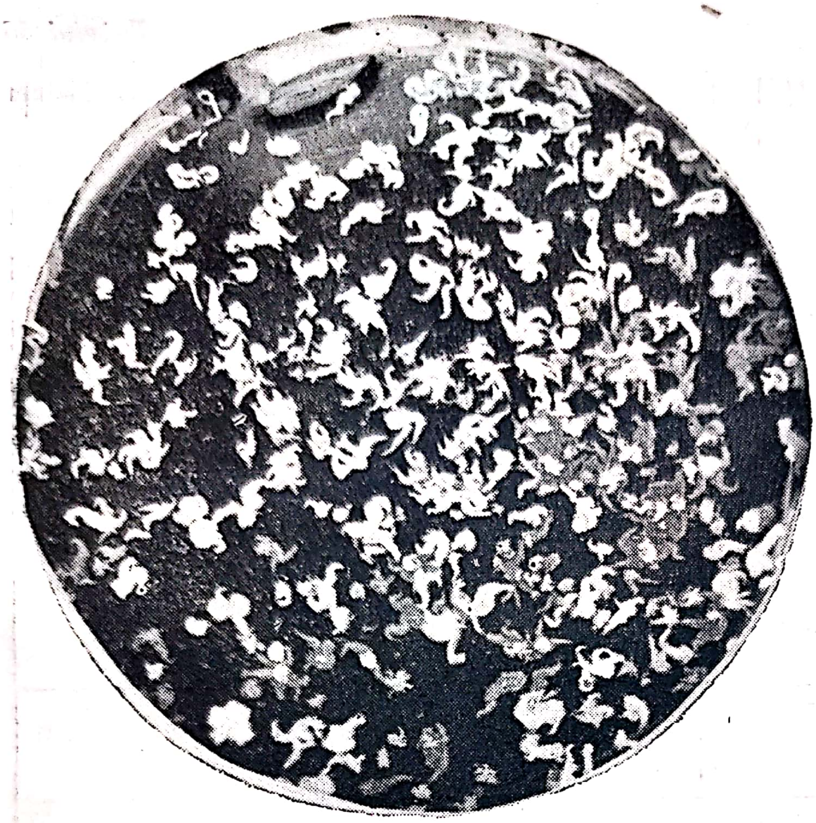


Fig. 120 — Bacillus anthracis

Aspect cultural pe agar în placă Petri (culturi din piele)

antigenică nu este alterată de bacteriile de putrefacţie sau de fermenţii lor. Reuşita reacţiei este condiţionată de folosirea unui extract bogat în precipitinogen şi a unui bun ser precipitant.

Extragerea antigenului din organe se face cel mai comod prin fierbere. În acest scop, cîteva grame din organul de examinat se taie în bucăţi cît mai mici şi se amestecă apoi cu aproximativ 5 volume de ser fiziologic. Cernăianu (1926) înlocuieşte serul fiziologic simplu prin ser fiziologic fenicat 0,5% ; fenolul, împiedicînd înmulţirea bacteriilor în putrefacţie, asigură conservarea filtratului. Amestecul de organe şi ser fiziologic, fenicat sau nu, se fierbe într-o baie de apă 5—10 minute. Lichidul se trece apoi printr-un filtru de vată de azbest; filtratul obţinut trebuie să fie perfect limpede. Primele picături, trecute prin filtru probabil din cauza fenomenelor de adsorbţie, sînt mai sărace în material precipitabil şi de aceea este bine ca ele să fie eliminate. Bogăţia extractului în precipitinogen variază în raport cu cantitatea de ţesut folosită şi cu bogăţia sa în antigen, deci în bacterii. Diversele organe interne nu sînt egal de bogate în bacili şi deci nu dau toate extracte de aceeaşi valoare.

Seruri precipitante active se obţin pe cal. Măgarul dă, se pare, un ser mai bun decît calul. Cultura, în vederea preparării serului precipitant, trebuie inoculată pe cale intravenoasă, deoarece căile subcutană sau intradermică (Grosu, 1926) sînt improprii. Virulenţa tulpinii nu are importanţă în procesul de fabricaţie a precipitinelor. Acestea iau naştere ca un răspuns la antigenele componente ale celulei bacteriene, indiferent dacă această celulă este moartă sau vie, virulentă sau lipsită de virulenţă. Kudriavţev şi Romanov (1928) obţin, de exemplu, un bun ser precipitant cu o albumină bacilară coagulată prin fierbere în mediu acid. Staub şi colaboratorii (1947), prepară un ser precipitant cu tulpini acapsulogene. Anghelof şi Kujumgiev (1935), Kujumgiev (1940), preparau serul precipitant pe cai deja imunizaţi contra cărbunelui injectîndu-le pe cale intravenoasă germeni capsulați, vii sau morți, obținuți din culturi pe agar cu ser de cal.

Serurile precipitante conțin numai anticorpi somatici cînd culturile folosite provin din tulpini acapsulogene și conțin anticorpi somatici și capsulari, cînd se folosesc, pentru injectarea animalelor, culturi de bacili capsulați. Serurile mixte sînt de preferat celor pur somatice, deoarece anticorpii capsulari, pe care primele îi conțin în plus, sînt mai activi decît cei somatici și dau deci o reacție vizibilă la o concentrație mai redusă de antigen. În extractele din organele cărbunoase, în care bacilii sînt capsulați, se găsesc atît precipitinogenul somatic, cît și cel capsulat, ceea ce impune folosirea serurilor mixte.

Titrarea serului precipitant. Un ser nu poate fi folosit decît după o prealabilă evaluare a valorii lui de diagnostic și după ce s-a dovedit că nu dă reacții pozitive cu extracte provenind din organe normale. Evaluarea valorii serului se face, în mod curent, executînd reacții de seroprecipitare, cu extracte provenind din diverse organe sigur cărbunoase. O evaluare mai precisă a puterii precipitante a unui ser se poate face folosind antigeni și seruri standard. Un antigen standard se poate prepara astfel: 1 g de bacili umezi, recoltați de pe suprafața agarului, se suspendă în 20 ml de ser fiziologic. Suspensia se fierbe 15 minute într-o baie de apă, apoi lichidul se decantează și se filtrează prin Seitz.

Un ser precipitant poate fi folosit în practică cînd dă o reacție vizibilă de seroprecipitare cu acest antigen, diluat 1/8. Unele seruri, bune precipitante, dau reacții chiar cu antigenul diluat 1/256. Valoarea precipitantă poate fi exprimată în unități față de acest antigen. Un ser care precipită cu antigenul standard, diluat 1/8, conține o unitate, cel care precipită cu antigenul diluat 1/16, două unități și așa mai departe. Un ser necunoscut, adică proaspăt preparat, se titrează paralel cu un ser cunoscut.

Serurile precipitante își păstrează timp îndelungat — cîțiva ani — valoarea lor inițială, dacă sînt conservate la rece și la întuneric. Nikiforova (1952) a arătat, totuși, că serurile precipitante își reduc valoarea lor inițială, după:

1—2 luni la lumină,
3 luni la 38°C sau
2—3 luni la 40°C.

Același rezultat îl dau și înghețarea și dezghețarea repetată.

Executarea reacției. Extractul clar, în volum de 0,5—1 ml se pune într-un tub de reacție. Serul precipitant, care trebuie să fie perfect limpede, se pune cu o pipetă bine efilată, în volum egal, în fundul tubului. Serul fiind mai greu rămîne la fund, iar antigenul se ridică la suprafață. Cele două lichide constituie astfel două straturi bine delimitate, iar la suprafața lor de contact ia naștere, atunci cînd extractul provine dintr-un organ cărbunos, un inel galben-cenușiu, de precipitare. Pentru control se folosește, paralel, un tub-martor pentru antigen, care conține antigen și ser normal. Cele două elemente se pun în tub în aceleași condiții ca și în tubul de reacție. O reacție pozitivă în tubul de reacție se poate produce atunci cînd antigenul conţine substanţe floculante nespecifice, şi, în acest caz, antigenul nu poate fi folosit decît după eliminarea substanţelor care dau reacţii de precipitare cu proteinele serului normal.

Specificitatea reacţiei. Cercetări recente au arătat că atît antigenii somatici, cît şi cei capsulari sînt nespecifici şi că diverşi bacili saprofiţi pot conţine unul sau altul din cei doi antigeni. Bacilul mezenteric şi *Bac. subtilis* conţin antigenul capsular, iar antracoizii pe cei somatici. Această constatare diminuă valoarea de diagnostic a reacţiei. Reacţii false, datorită prezenţei, în materialul de cercetat a saprofiţilor, avînd antigenii comuni cu bacilul cărbunelui apar, în special, cu extracte din alimente conservate (pastramă), în care s-a putut efectua o înmulţire a acestor aerobi saprofiţi. În organe, se pare că aceşti germeni nu se pot înmulţi. Experimental, injectarea, într-o splină normală a unui saprofit care avea un antigen comun cu *Bac. anthracis,* nu a dus la producerea unei cantităţi de antigen decelabil prin seroprecipitare. Înlăturarea reacţiilor false se poate face folosind paralel seruri adsorbite, cu bacili mezenterici şi antracoizi. Serul precipitant anticărbunos, adsorbit cu bacili mezenterici, dă o reacţie pozitivă, atît cu extracte obţinute din bacili cărbunoşi, cît şi cu cele provenite din antracoizi. Serul adsorbit cu antracoizi dă reacţii pozitive, cu extracte mezenterice şi cărbunoase. Un extract dintr-un organ suspect, care dă reacţii pozitive cu: 1) serul precipitant neadsorbit; 2) serul precipitant adsorbit cu bacili mezenterici; 3) serul precipitant adsorbit cu bacili antracoizi, conţine foarte probabil, antigenul cărbunos. Reacţia ar putea fi falsă, atunci cînd în organ, deşi nu există bacili cărbunoşi, ar fi pătruns atît bacili mezenterici, cît şi antracoizi, ceea ce desigur nu este imposibil, dar pare totuşi greu să se întîmple.

Diagnosticul antraxului din piei. Acest procedeu se aplică fie pentru a descoperi pieile jupuite de pe animale cărbunoase şi puse clandestin în comerţ, fie pentru a diagnostica infecţia cărbunoasă la animale. Din pieile proaspete şi anume din sîngele din vase se pot face frotiuri, culturi şi reacţia de seroprecipitare; din cele vechi, în mod curent, nu se poate face, în scop de diagnostic, decît reacţia de seroprecipitare. Precipitinogenul se poate extrage prin fierbere. Rezultate mai bune se obţin prin extragerea, la rece, cu ser fiziologic fenicat 0,5—1%. Pentru extragerea la rece a antigenului se amestecă porţiuni de piele tăiată mărunt, cu un volum dublu sau triplu de ser fenicat şi amestecul este ţinut la 4°C 16—24 de ore. Lichidul limpede, necesar reacţiei, se obţine din amestec, fie prin centrifugare, fie prin filtrare. Reacţia se face cu un ser precipitant cît mai bogat în precipitine.

Ciucă şi Stoicescu (1909) recomandă, pentru diagnosticul antraxului din piei, un procedeu bacteriologic. Procedeul se bazează pe constatarea, făcută de autori, că în piei bacilii cărbunelui nu se lizează, aşa cum se întîmplă în organele interne, ci se transformă în spori; sporularea se datoreşte, probabil, contactului cu oxigenul din atmosferă. Bacteridia, într-adevăr, a putut fi cultivată din pielea cadavrelor cărbunoase intrate în putrefacţie. În vederea efectuării culturilor se recoltează porţiuni din piele, avînd forme pătrate sau dreptunghiulare şi dimensiuni de 3—5 cm; aceste porţiuni de piele se fixează pe bucăţi mici de scîndură şi se pun la uscat, la 37°C, în plăci Petri sterile. După uscare, din fiecare probă de piele se rade cu o lamă de sticlă sterilizată, puțin țesut conjunctiv; acest țesut se pune într-un tub cu bulion, care se încălzește apoi 15 minute la 65°C, cu scopul de a distruge toți germenii asporogeni. Fără această operație flora bacteriană din amestec ar fi prea bogată și ar împiedica dezvoltarea bacteridiei. Amestecul, după încălzire, este însămînțat în cantitate de 8—10 picături, în mai multe tuburi cu agar topit, și adus la o temperatură de 45—50°C. Tuburile cu agar însămînțate și în care mediul este încă lichid se agită bine, apoi conținutul lor se varsă în plăci Petri sterile. Citirea rezultatelor se face după o incubație de 24—48 de ore la 37°C. Coloniile suspecte se examinează la microscop; esențial, din punct de vedere al diagnosticului, este diferențierea coloniilor de *Bac. anthracis* de cele de antracoizi. De cele mai multe ori, aspectul coloniilor din plăci este caracteristic și permite precizarea diagnosticului. Atunci cînd examenul macro — și microscopic al coloniei este îndoielnic, se verifică patogenitatea germenilor pe șoarece.

Metoda culturilor în plăci trebuie executată cu foarte mare atenție, căci altfel se pot produce erori de diagnostic, precum și accidente. Astfel, în timpul operației se pot răspîndi foarte mulți spori, care pot infecta plăcile și chiar pe operator.

Valoarea diverselor metode de diagnostic. Valoarea diverselor procedee de diagnostic a fost îndeaproape urmărită. Astfel, la serviciul de diagnostic al Institutului „Pasteur" din București, în anii 1936—1940 s-au primit 14 634 de probe provenite de la animalele suspecte de antrax; infecția s-a diagnosticat la 6 398 de cadavre. Diagnosticul s-a stabilit recurgîndu-se, pentru fiecare probă, la una sau mai multe metode de examinare. Astfel:

1. *Frotiurile* au fost făcute din 3 665 de probe pozitive și s-au găsit bacili numai în 2 293 de cazuri, obținîndu-se deci rezultate false în 18,34% din cazuri. Într-adevăr, dacă s-ar fi aplicat numai procedeul frotiurilor, aceste cazuri rămîneau neidentificate deși conțineau bacili sau antigeni cărbunoși, cum s-a putut constata prin celelalte procedee de diagnostic.
2. *Culturile,* în bulion și pe agar, s-au făcut din 2 121 de probe, rezultate false obținîndu-se la un procent de 24, 42% din cazuri.
3. *Reacția de seroprecipitare* s-a aplicat la 5 192 de probe și a fost pozitivă în 4 375 de cazuri (84,26%), dînd rezultate false în 15,74%.
4. *Culturile în plăci* s-au făcut din 2 820 de piei provenite de la animalele sigur moarte de cărbune, fiind pozitive în proporție de 89,47%, iar negative în proporție de 10,53%.

Fiecare procedeu deci dă un oarecare procent de erori, procent a cărui valoare este în funcție de organul trimis spre diagnostic și de gradul său de putrefiere. Splina dă rezultatele cele mai sigure, chiar dacă este alterată. Într-adevăr, în cursul celor 5 ani, s-au examinat 754 de spline, provenind de la animalele sigur cărbunoase, constatîndu-se că frotiurile au fost pozitive în proporție de 92,36%, culturile în proporție de 84,22%, iar reacția de seroprecipitare în proporție de 98,36%. Reacția de seroprecipitare din splină greșește deci cel mai puțin. Aceeași reacție dă rezultate mai puțin precise cînd este făcută cu extracte din piele; ea a fost pozitivă numai în 89,11% din totalitatea cazurilor de antrax. Metoda Ciucă-Stoicescu dă același procent de erori pentru piei ca și reacția de seroprecipitare. Dumitriu

(1942) a examinat comparativ prin cele două metode (seroprecipitare și culturi în plăci), 359 de piei sigur cărbunoase obținînd reacții serologice pozitive în 89,11 %, iar culturi în 84,95%. Rusu (1932) cercetînd registrele serviciului de diagnostic ale Institutului „Pasteur" București, pe perioada 1919—1930, a observat că reacția de seroprecipitare în acest interval de timp a fost inferioară culturilor în plăci. Acestea din urmă au dat rezultate pozitive în 81,66% din pieile examinate, iar reacția Ascoli numai în 68,73%.

Reacția de seroprecipitare, executată în bune condiții și asociată cu metoda culturilor în plăci, reușește să descopere majoritatea cazurilor de antrax, chiar cînd se folosesc numai porțiuni din piele.

Profilaxia cărbunelui depinde, într-o mare măsură, de rapiditatea și exactitatea cu care se face diagnosticul bolii. Acest diagnostic cere, aproape fără nici o excepție, concursul laboratorului. Materialul care se trimite acestuia, în vederea examenului bacteriologic și serologic, trebuie să fie astfel ales încît să se poată face pe el toate probele care asigură un diagnostic precis. Din examinarea valorii diverselor metode de diagnostic al cărbunelui a reieșit care sînt organele și țesuturile ce asigură atingerea acestui scop.

Vaccinarea anticărbunoasă

În profilaxia cărbunelui și mai ales în lupta pentru diminuarea pierderilor economice, provocate de această infecție, vaccinarea anticărbunoasă a deținut și deține încă, un loc de prim ordin. Nereușind să distrugem germenii infectanți din natură din cauza particularităților biologice pe care le prezintă, încercăm să conferim o stare de rezistență animalelor receptive. Conferirea stării de rezistență a preocupat pe cercetători și s-au făcut numeroase încercări cu scopul de a rezolva această problemă. Amintim aici încercările de vaccinare făcute de Toussaint în 1880, cu sînge filtrat sau încălzit la 55°C și obținut din cadavrele animalelor moarte de cărbune, sau încercările lui Colin (1880), care a reușit chiar să imunizeze animalele cu doze submortale de culturi virulente. S-au făcut și alte încercări similare. Astfel, Agata (1910) injectează la animale, în scopul vaccinării lor, un amestec de bacili virulenți și bacili piocianici. Rezultate practice și care merită să fie semnalate au fost obținute însă, pentru prima oară, de Pasteur. Opera lui Pasteur nu a fost de la început perfectă și, în vederea perfecționării ei, s-au făcut extrem de numeroase tentative, dar cele mai multe din ele, nu au lăsat urme în practica actuală a vaccinării anticărbunoase. În schimb, alte tentative au fost fructuoase și au contribuit la îmbunătățirea reală a valorii vaccinurilor anticărbunoase. Dintre aceste tentative fructuoase trebuie să semnalăm, în primul rînd, lucrările lui Țenkovski (1883), care au dus la înlocuirea în vaccinuri a formelor vegetative prin spori, ceea ce, din punct de vedere practic, prezintă un interes considerabil; apoi, lucrările care au arătat că imunitatea anticărbunoasă este legată de capacitatea tulpinilor de a produce edem la animalele de experiență, și că această capacitate nu are nici o legătură cu capsula, care este însă un important factor de virulență. În fine, lucrările care au demonstrat importanța substanțelor adjuvante, în procesele organice, care duc la instalarea stării de imunitate împotriva cărbunelui. Să examinăm aceste diverse momente importante în evoluţia metodelor de vaccinare anticărbunoasă.

Vaccinurile lui Pasteur. Pasteur este fondatorul vaccinoprevenţiei ştiinţifice. Ceea ce l-a determinat pe Pasteur, să caute în vaccinuri un mijloc de prevenire a bolilor infecţioase a fost constatarea, foarte veche de altfel, că bolile infecţioase nu recidivează. Dacă nu recidivează — raţionează el — înseamnă că aceste boli lasă organismului prin care au trecut o stare de imunitate. Să încercăm — îşi spune el — să instalăm această stare de imunitate fără însă a pune în pericol viaţa aceluia pe care vrem să-l punem la adăpost. Acest lucru nu se poate realiza, în mod practic, cu germeni virulenţi, pentru că aceştia produc infecţia, ci numai cu microbi care dau o formă uşoară de boală, adică au, aşa cum se exprimă însuşi Pasteur, o capacitate redusă de a se propaga în organismul viu. Pornind de la aceste baze teoretice juste, începe studiul condiţiilor de atenuare a virulenţei microbilor. El realizează întîi o atenuare a pasteurelei aviare, prin simpla cultivare a germenului în bulion, la 37°C. Observă că acest germen, redus în funcţiunile sale de patogenitate, este capabil să imunizeze găina. Problema cărbunelui bacteridian era însă şi mai arzătoare decît cea a holerei păsărilor şi Pasteur caută s-o rezolve sprijinindu-se pe rezultatele anterioare obţinute în cazul pasteurelei. Aici însă se izbeşte de o dificultate care rezultă din deosebirile dintre cei doi germeni. *Pasteurella* nu sporulează, în timp ce bacilul cărbunos sporulează; însămînţat în bulion, el se transformă la 37°C în spori. Aceştia, spre deosebire de formele vegetative, sînt insensibili faţă de acţiunea atenuantă a mediului ambiant. Sporularea constituie deci o piedică serioasă pentru a rezolva problema atenuării bacilului cărbunos. Soluţia nu poate fi găsită decît descoperind condiţiile în care bacilul este împiedicat să sporuleze. Pasteur, ajutat de colaboratorii săi, cercetează aceste diverse condiţii şi găseşte că la 42—43°C bacilul nu mai sporulează. Bacilii, la această temperatură, se înmulţesc, nu formează spori şi mor după 4—8 săptămîni. Moartea germenilor este însă precedată de o serie de modificări care privesc forma şi mai ales patogenitatea lor. Transplantînd bacilii, la diverse intervale de timp, după însămînţare şi incubarea lor la 43°C, Pasteur, obţine variante cu diverse grade de patogenitate. Astfel, numai după o incubaţie de 8 zile bacilii unei tulpini nu mai omoară oaia, iepurele şi uneori nici chiar cobaiul adult. După o incubaţie de 12 zile la 43°C tulpina nu mai omoară în nici un caz cobaiul adult, dar omoară şoarecele; după 31 de zile omoară numai şoarecii tineri, iar după 43 de zile nu mai omoară nici măcar şoarecele. Pierderea virulenţei este totală. El constată însă că germenii incomplet atenuaţi îşi pot recăpăta parţial sau total patogenitatea. El ajunge, plecînd de la o tulpină patogenă numai pentru cobaiul de 1 zi, la o tulpină care omoară cobaiul adult, iepurele şi chiar oaia. O recîştigare a virulenţei este posibilă pentru bacilul cărbunelui atenuat, după cum era şi pentru *Pasteurella* atenuată.

Tulpinile de bacili cărbunoşi, atenuate prin cultivarea la 42—43°C nu pierd capacitatea lor de a sporula. Sporii proveniţi din forme atenuate dau naştere, în condiţii favorabile de germinaţie, la forme vegetative identice, ca virulenţă, cu cele care le-au produs.

Folosind tulpini de diferite grade de atenuare, Pasteur reuşeşte să imunizeze în condiţii de laborator oile, şi capătă astfel convingerea că aceste tulpini pot fi folosite în imunizarea oilor pe teren. Dar înainte de a trece pe teren, el face cunoscută experienţa de la Pouilly-le-Fort prin care cercetările sale de laborator şi previziunile sale teoretice sînt confirmate în totalitate. El injectează, la 5 mai 1881, 24 de oi, 1 capră şi 6 vaci cu cîte 5 picături dintr-o cultură de bulion, provenind dintr-o tulpină atenuată, care omoară însă cobaiul; 12 zile mai tîrziu (17 mai) aceleaşi animale sînt reinoculate cu o cultură în bulion a unei tulpini atenuate, dar mai virulentă decît prima (omoară neregulat oaia). La 31 mai, toate animalele astfel vaccinate, precum şi 24 de oi, 1 capră şi 4 bovine, care nu fuseseră vaccinate, sînt injectate cu cultura unei tulpini virulente. Rezultatul a fost cel aşteptat de Pasteur. În decurs de 48 de ore, toate oile şi capra nevaccinate au murit; bovinele nevaccinate au prezentat edeme locale masive, dar au rezistat. Bovinele vaccinate n-au prezentat nimic asemănător. Oile vaccinate au rezistat toate, afară de o oaie gestantă care a murit după 3 zile, dar medicul veterinar, care a autopsiat-o, nu a găsit leziuni de antrax şi a atribuit pierderea acestui animal faptului că fătul murise în uter, cu 15 zile înainte. Însămînţările făcute din organe au fost însă pozitive, ceea ce înseamnă că oaia a murit totuşi de antrax, ea nefiind suficient imunizată.

În urma acestor rezultate s-a instituit metoda pasteuriană de imunizare anticărbunoasă, care s-a extins repede în toate ţările şi pe principiile căreia se sprijină, în mare parte, actualele procedee de vaccinare anticărbunoasă. Metoda pasteuriană folosea două vaccinuri. Un prim vaccin preparat dintr-o tulpină foarte atenuată de bacili cărbunoşi şi cunoscuţi sub numele de vaccin Pasteur I şi un al doilea vaccin preparat dintr-o tulpină mai virulentă decît prima şi care constituie vaccinul Pasteur II. Gradul de virulenţă a acestor tulpini nu a fost stabilit cu precizie. Tulpina numită Pasteur I omoară cobaiul, dar nu omoară iepurele, iar vaccinul II omoară cobaii şi jumătate din totalul iepurilor injectaţi. În unele instituţii însă se consideră că o tulpină are virulenţa vaccinului I cînd omoară şoarecele, dar nu omoară cobaiul, iar vaccinul II cînd omoară cobaiul, dar nu omoară iepurele. De altfel, virulenţa tulpinilor vaccinale nu putea fi precis stabilită, mai ales în timpul lui Pasteur, cînd problema infecţiei cărbunoase experimentale era puţin cercetată şi cînd importanţa dozei, şi mai ales a porţii de intrare, în producerea infecţiei, nu era încă precizată. Lucrările lui Pasteur au fost verificate şi confirmate de mulţi cercetători. În ţara noastră Riegler a obţinut tulpini atenuate de bacili cărbunoşi folosind metoda pasteuriană. Tehnica utilizată în acest scop este următoarea: tulpina virulentă aleasă pentru a fi atenuată se inoculează unui iepure sau unui cobai. Animalul se autopsiază imediat după moarte şi din sîngele din cord se fac însămînţări în bulion, iar tuburile însămînţate se pun imediat la un termostat reglat la o temperatură de 42—43°C; începînd din a treia zi se fac zilnic transplantări pe medii obişnuite, care se incubează la temperatura de 37°C; culturile astfel obţinute se examinează apoi din punct de vedere al patogenităţii pentru şoarece, cobai şi iepure. Reuşita operaţiei de atenuare este condiţionată de o serie de factori şi mai ales de tulpină. Sînt tulpini care se atenuează foarte greu. Pasteur însuşi a constatat că tulpinile se comportă diferit faţă de acţiunea atenuantă a temperaturii, oxigenului şi a altor factori care intervin în acest proces. Un alt factor important îl reprezintă condiţiile tehnice de lucru. Atenuarea nu reuşeşte dacă se însămînţează spori în mediul de cultură care se pune la 42—43°C. Pentru a se evita acest inconvenient, însămînţările se fac din organele animalelor infectate, în care după cum s-a spus, nu se găsesc decît forme vegetative. Tot aşa atenuarea nu reuşeşte dacă termostatul prezintă variaţii de temperatură, căci, dacă temperatura termostatului scade sub 40°C bacilii sporulează şi o dată sporii formaţi ei nu se mai atenuează.

Pe lîngă acest mod de atenuare s-a mai folosit încă din timpul lui Pasteur, şi un altul (Chamberland şi Roux 1883, Gamaleia 1888), care constă din cultivarea tulpinilor virulente în mediul care conţin 0,2—0,4% bicromat de potasiu. Şi în aceste medii procesul de sporulare este inhibat şi atenuarea se poate deci realiza.

Vaccinurile lui Ţenkovski. Experienţele făcute de Pasteur erau convingătoare. Ele arătau în mod neîndoios, că animalele injectate cu bacili atenuaţi capătă o rezistenţă solidă faţă de o severă infecţie experimentală şi cu atît mai mult faţă de infecţia naturală, în general mai puţin severă decît cea experimentală. Încercarea de a aplica vaccinurile lui Pasteur în Rusia, unde antraxul era foarte răspîndit, nu a dat rezultate aşteptate. Astfel, în 1882 s-a vaccinat, în provincia Cherson, un număr de oi cu vaccin adus de la Paris însă oile injectate nu s-au imunizat şi au murit în urma infecţiei de control. Pe de altă parte, nici vaccinurile preparate la Odesa cu tulpinile aduse de la Paris nu au dat rezultate favorabile, căci din 4 414 oi vaccinate 3 546 (80,3%) au murit din cauza vaccinului. Aceste două încercări făcute în Rusia arătau că vaccinurile lui Pasteur prezintă două defecte, şi anume: 1) nu se conservă un timp suficient (incapacitatea vaccinului adus de la Paris de a imuniza oile în Rusia se explică prin liza formelor vegetative în bulionul în care acestea erau cultivate); 2) tulpinile folosite de Pasteur sînt prea virulente şi pot produce, în condiţii de cultură şi preparare a vaccinului, diferite de cele ale lui Pasteur, accidente mortale.

Ţenkovski, convins de exactitatea cercetărilor lui Pasteur, încearcă să remedieze aceste inconveniente. În cursul acestor încercări el reuşeşte, în 1883, să obţină tulpini de diferite grade de atenuare, prin cultivarea bacililor cărbunoşi virulenţi la 42,5°C. Din tulpinile atenuate el alege două variante, care sînt cunoscute sub numele de vaccinul I şi vaccinul II Ţenkovski. Vaccinul omora constant şoarecele, precum şi o parte — $^1/_4$—$^1/_3$ — din ţiştari (*Spermophilus gutatus*) şi era inofensiv pentru iepure şi oaie. Vaccinul II omora constant şoarecele, ţiştarii îi ucidea în proporţie de 50—63%, iepurii 30%, iar oile 10—20%. Ţenkovski prepară din aceste tulpini vaccinuri şi pentru a le păstra stabilitatea el menţine culturile, în vederea sporulării lor, 5—6 zile la termostat. Suspensiile acestor culturi sînt amestecate apoi cu glicerină, obţinînd astfel un vaccin conservabil şi stabil. Glicerina, aşa cum s-a putut demonstra mai tîrziu, omora formele vegetative, dar nu avea nici o influenţă asupra sporilor. Vaccinurile sporulate și glicerinate au rezolvat o serie de dificultăți legate de problema imunizării împotriva cărbunelui. Valoarea lor imunizantă a fost demonstrată de Țenkovski și colaboratorii săi, în cursul unei experiențe făcute în prezența unei comisii de stat. Cu această ocazie s-au inoculat 1 333 de oi care apoi au fost supuse unei infecții severe de control. Toate animalele au rezistat. Vaccinurile preparate din tulpini atenuate de Țenkovski și conținînd glicerină, au fost folosite în urma acestor cercetări experimentale, în toată Rusia, iar metoda conservării stabilității vaccinului prin glicerină a fost adoptată, treptat, de majoritatea institutelor de vaccinuri din lume.

Vaccinurile preparate din tulpini edematogene și acapsulogene, de tip Stamatin-Sterne. Vaccinurile pasteuriene, îmbunătățite simțitor, în ceea ce privește aplicabilitatea lor pe teren, prin lucrările lui Țenkovski, nu reprezentau produse în totul și în toate cazurile satisfăcătoare. Uneori, ele dădeau naștere la accidente de vaccinație și, pentru acest motiv, virulența tulpinilor vaccinale a fost mereu redusă. Această reducere a virulenței se făcea de multe ori în detrimentul valorii imunizante a vaccinului. Cu toate aceste reduceri de virulență, accidentele nu erau total excluse și de aceea s-au făcut încercări, cu scopul de a realiza disjuncția virulenței de capacitate imunizantă. Această despărțire a fost în mare parte realizată prin izolarea variantelor cunoscute sub numele de edematogene și acapsulogene (Stamatin, 1931—1938, Sterne, 1937—1939). Ce sînt aceste variante și cum se pot obține? Variantele edematogene și acapsulogene sînt tulpini de bacili ai cărbunelui care nu capsulează nici pe medii propice, nici în organismul animalelor receptive, dar care produc animalelor de experiență — șoareci, cobai, iepuri — edem la locul de injecție (administrare subcutană). Edemul produs poate atinge dimensiuni considerabile și chiar omorî animalul, dar la autopsie nu se constată o septicemie cărbunoasă adevărată; bacilii pot fi cultivați din sînge sau din splină, dar nu se văd în frotiuri; ei se găsesc însă în frotiurile făcute din edemul local, dar sînt fără capsulă. Asemenea tulpini au fost obținute, pentru prima oară de Bail, la Praga, în 1915. Autorul ajunge la această descoperire, în mod întîmplător; el se ocupa de acțiunea căldurii asupra bacililor virulenți și, în cursul acestor cercetări, el observă că germenii dintr-o cultură veche de 16 zile și încălzită timp de 4 ore la 48°C, însămînțați în ser sanguin, se prezintă în acest mediu sub două aspecte, si anume: unii germeni se încapsulează, iar alții nu. Izolîndu-i pe aceștia din urmă și făcînd cu ei 25 de treceri în ser, observă că ei nu se mai încapsulează nici în organismul animal (șoarece), deși provoacă apariția unui edem local în cazul inoculării subcutane.

Rezultate asemănătoare au fost obținute de autor cultivînd bacili în ser de porc și încălzind cultura la 44—45°C, întîi 12 ore și apoi încă 4 ore. Tulpina astfel izolată provoacă, după trei treceri în ser, edem la șoarece și cobai, dar ea a pierdut această proprietate după cinci treceri consecutive pe șoarece. Bail nu a acordat însă o atenție prea mare tulpinilor pe care le-a izolat, nu a întrevăzut importanța lor practică și teoretică, și de aceea nu le-a cercetat îndeaproape proprietățile lor biologice.

Stamatin (1936) a obținut tulpini edematogene și acapsulogene printr-un procedeu care nu are nici o legătură cu cel folosit de Bail. Autorul observă (1931) că bacilii virulenţi, cultivaţi în sînge defibrinat de cal un timp mai îndelungat, cîteva săptămîni sau mai mult, dau naştere aproape regulat, dar nu totdeauna, la tipuri mucogene, caracterizate prin aceea că bacilii sînt încapsulaţi pe agar, iar coloniile, pe acest mediu, sînt bombate, lucioase, mucogene şi uneori difluente, putîndu-se prelinge (scurge) pe suprafaţa agarului, dacă acesta este ţinut în poziţie verticală. De cele mai multe ori şi mai ales îndată după izolare, tipurile mucogene erau instabile. Cultivate pe agar, de regulă se disociau la fiecare trecere pe un mediu proaspăt, formînd pe lîngă colonii mucogene şi colonii aspre, rotunde şi care conţineau bacili necapsulaţi. Examinînd puterea patogenă a germenilor din aceste din urmă colonii s-a constatat, contrar aşteptărilor, că aceste variante nemucogene nu reprezintă o întoarcere la tipul virulent şi necapsulat, ci o variantă cu însuşiri noi, deosebite şi de tulpinile virulente şi de tipul mucogen din care provin. Astfel, în timp ce tipul virulent, ca şi cel mucogen, omorau cobaiul producîndu-i leziuni tipice, cu prezenţa în sînge şi organe a bacililor capsulaţi, varianta nouă nu omora cobaiul, şi atunci cînd îi producea o infecţie mortală leziunile nu corespundeau în totul cărbunelui clasic. Organele interne, într-adevăr, nu erau congestionate, şi bacilii lipseau din organe; în schimb, la locul de injecţie, ca şi în ţesutul conjunctiv din jur se găsea un edem gelatinos de dimensiuni mari, avînd caracterele edemului cărbunos, dar în care bacilii prezenţi erau necapsulaţi. Ceea ce caracteriza deci această variantă era incapacitatea de a se încapsula şi, în consecinţă, de a produce septicemia cărbunoasă.

Variantele, obţinute după procedeul de mai sus şi numite de autor edematogene şi acapsulogene, nu se încapsulează niciodată în organismul animalelor de experienţă. Şoarecii, inoculaţi pe cale subcutană cu aceste variante, mor într-un procent foarte ridicat; la autopsia lor se constată prezenţa edemului gelatinos în ţesutul conjunctiv subcutan; bacilii, de regulă, nu se găsesc în frotiurile de organe, dar se găsesc în cele din edem; ei sînt totdeauna lipsiţi de capsulă. Isopescu (1949), ocupîndu-se de patogenitatea pentru şoarece a unei asemenea tulpini, şi anume tulpina 1190 R, a stabilit că dozele care conţin 100—700 milioane de spori omoară şoarecii, pe cale subcutană, în proporţie de 80%; culturile din cordul şoarecilor morţi sînt pozitive în proporţie de 30%. Cobaii inoculaţi cu doze mari de spori — 400—600 milioane — mor în proporţie de 41,7%; culturile din cord sînt pozitive numai la o mică parte din cobai. Variantele edematogene şi acapsulogene pot produce un edem gelatinos de tip cărbunos şi la iepure, dar la acest animal el se resoarbe în majoritatea cazurilor şi numai rar se întinde în tot ţesutul conjunctiv subcutan, omorînd animalul. Isopescu stabileşte şi în cazul iepurilor proporţia mortalităţii în raport cu doza. Astfel, din 60 de iepuri inoculaţi subcutan cu 1—3,5 miliarde de spori au murit 19 şi au rezistat 41. La iepure, ca şi la cobai şi şoareci, bacilii se găsesc numai în frotiurile din edem, şi, la fel, sînt lipsiţi de capsulă.

Tulpina este patogenă pentru porumbel numai pe cale intracerebrală (Isopescu, 1950). Ea omoară constant iepurele pe cale intracerebrală (Isopescu, 1952) şi şoarecele pe cale intrapleurală (Popovici şi Wegener, 1950). Staub şi colaboratorii (1955), recurgînd la anumite artificii experimentale, au reuşit să infecteze aproape constant cobaiul;

moartea se produce numai cînd bacilii edematogeni şi acapsulaţi sînt injectaţi în ganglionul ileo-cecal, în cord sau splină. La animalele moarte în urma injecţiei culturii în splină sau ganglion, bacilii nu sînt prezenţi în toate organele.

Examenul serologic ale acestei variante a arătat că ea nu conţine antigenul capsular; în consecinţă, extractele obţinute din suspensiile sale bacilare nu reacţionează cu un ser anticapsular pur, ceea ce constituie o dovadă în plus că germenii sînt acapsulogeni.

Tulpini asemănătoare a izolat şi Sterne (1937). Autorul, lucrînd paralel şi necunoscînd rezultatele obţinute de Stamatin, ajunge să izoleze variante acapsulogene şi edematogene, cultivînd bacilii virulenţi în agar cu 50% ser de cal şi într-o atmosferă îmbogăţită în CO_2 (10—30%). În asemenea condiţii de cultivare, bacilii virulenţi formează iniţial colonii mucoase; pe marginea acestor colonii nu întîrzie însă să apară prelungiri laterale rugoase şi constituite din germeni necapsulaţi şi, mai mult încă, necapsulogeni. Transplantînd germenii din aceste prelungiri Sterne obţine variante edematogene şi acapsulogene. Variantele astfel obţinute au fost verificate în ceea ce priveşte inocuitatea şi valoarea lor imunizantă, întîi în laborator şi apoi pe teren. Rezultatele obţinute fiind favorabile, asemenea variante (în special tulpina 34 F_2) au fost introduse şi folosite apoi exclusiv pentru prepararea vaccinurilor anticărbunoase în Africa de sud. Metoda folosită de Sterne, pentru a obţine variante acapsulogene, a fost verificată şi confirmată de Cîrsteţ (1949), precum şi de alţi cercetători.

Ghinsburg (1942) obţine o variantă asemănătoare, varianta Sti. care, în urma rezultatelor pozitive obţinute de o comisie de stat compusă din Leonov, Terentiev, Vîşeleski şi Svinţov şi a unor largi aplicaţii experimentale (Kolesov, 1957), este folosită, alături de tulpini de tip pasteurian, în imunizarea animalelor contra cărbunelui, în U.R.S.S. Kujumgiev (1955) obţine variante acapsulogene şi edematogene cultivînd bacili virulenţi în bulion obişnuit, dar acoperit cu un strat de oleu de vaselină. În aceste condiţii, după o conservare de 98 de zile la 37°C şi 210 zile la temperatura camerei, apare o variantă care dă colonii mucoase şi alte colonii rugoase; aceasta din urmă conţinea germeni acapsulogeni, dar edematogeni şi imunizanţi.

Staub şi Virat (1954) obţin o variantă atenuată şi vaccinantă prin acţiunea clorhidratului de chinină.

Valoarea imunizantă a tulpinilor edematogene şi acapsulogene a fost în mod neîndoios demonstrată, atît experimental, cît şi prin aplicaţii practice îndelungate (Stamatin, 1936, Sterne, 1937, Rădulescu, 1938, Ivanovics, 1938, Takahasy, 1939, Buza, 1940, Isopescu, 1949, Koleakov, 1951, Satko şi colaboratorii, 1951, Kujumgiev, 1955, Personeus, 1956 etc.) Experimental, Stamatin (1936—1937), a imunizat cu o asemenea tulpină iepurele şi oaia. Mai mult, cobaiul care se imunizează atît de greu, chiar faţă de tulpini atenuate a putut fi aşa de solid vaccinat cu asemenea tulpini, încît el rezista chiar faţă de infecţii făcute cu bacili virulenţi (Stamatin şi Tacu, 1943). Chiar şoarecii care supravieţuiesc inoculării cu aceste tulpini prezintă un grad oarecare de rezistenţă față de tulpinile atenuate dar capsulate, de cărbune (Stamatin și Stamatin, 1936). După cum se știe, imunizarea șoarecilor cu tulpini pasteuriene este foarte dificilă (Boquet și Saenz, 1930).

Introducerea substanțelor adjuvante în practica preparării vaccinurilor anticărbunoase. Folosirea unor substanțe inerte, cu scopul de a mări valoarea imunizantă a vaccinurilor, în general, și a vaccinului anticărbunos, în special, este o cucerire relativ recentă a imunologiei ; este drept că în cazul vaccinului anticărbunos glicerina, folosită de Țenkovski ca un stabilizator și conservator al valorii produsului, juca în același timp, așa cum s-a dovedit mai tîrziu, și rolul unei substanțe adjuvante, căci ea mărește capacitatea imunizantă a vaccinului anticărbunos.

Cercetările privind introducerea unor substanțe adjuvante în vaccinurile anticărbunoase încep însă sub acest aspect o dată cu lucrările lui Mazzuchi (1929), Hruska (1931), Ramon și Staub (1936). Autorii, plecînd de la constatarea, făcută de Gamaleia (1888), că există o relație între procesul infamator local provocat de vaccinul anticărbunos și gradul de imunitate ce se instalează într-un organism, au încercat să asocieze suspensiei vaccinale unele substanțe capabile să înlesnească constituirea focarului inflamator. Mazzuchi a folosit, în acest scop, întîi serul hemolitic și apoi saponina. Sporii, chiar virulenți, inoculați în amestec cu o soluție de saponină, nu produc infecția animalului, însă provoacă, local, un edem gelatinos de dimensiuni importante. Acest edem se constituie foarte repede ; el împiedică infecția, dar nu instalarea imunității. Mazzuchi a folosit pentru vaccinarea animalelor suspensii de spori (tulpini atenuate corespunzînd vaccinului II Pasteur) în soluție de saponină 20%. Hruska, în Cehoslovacia, prepară un vaccin anticărbunos după același procedeu. Saponina, după acest autor, poate fi înlocuită cu digitonina.

Saponina, mai ales în concentrații mari, produce, în unele cazuri, necroza locală a pielii ; pentru a evita aceste alterații care pe lîngă că depreciază valoarea animalului, diminuează chiar valoarea imunizantă a vaccinului, procentul de saponină a fost redus de la 20 la 10, la 1 sau chiar la 0,1%.

Ramon și Staub (1936), inspirîndu-se din lucrările lui Mazzuchi și Hruska, precum și din lucrările lui Ramon (1925—1926) privind acțiunea favorizantă a unor subatanțe ca : lanolina, clorura de calciu, tapioca etc., în producerea imunității antitoxice, au preparat un vaccin anticărbunos care conținea ca substanță adjuvantă geloză sau alaun. Autorii folosesc o tulpină atenuată de cărbune, care corespunde virulenței inițiale a vaccinului I Pasteur ; ea omora regulat cobaiul, chiar într-o diluție de 1/100 dintr-o cultură de 24 de ore în bulion, dar era inofensivă pentru iepure. Suspensiile de spori ale acestei tulpini sînt amestecate fie cu geloză în proporție de 1%, fie cu alaun 1—3%, fie cu ambele substanțe în aceleași proporții. Experimental, ca și în practică, vaccinul s-a arătat inofensiv pentru animale ; gradul de imunitate ce se stabilește în urma unei asemenea inoculări este ridicat.

Valoarea diverselor excipiente în accentuarea puterii imunizante a vaccinurilor anticărbunoase a fost studiată de Sterne (1948) pe cobai. Autorul constată că doze mici de vaccin, preparat din tulpini edematogene și acapsulogene, imunizează cobaii în proporţie de 95—100% dacă suspensia de spori conţine 0,25—2% saponină; în proporţie de 95—100% dacă suspensia conţine 20—30% clorură de sodiu; în proporţie de 65% dacă conţine 50% glicerină; în proporţie de 75% dacă conţine 25% Cl_2Ca; în proporţie de 95%, dacă conţine 20% SO_4Na_2; în proporţie de 46% dacă conţine 0,5% alaun; în proporţie de 12% dacă conţine 0,1% agar, iar sporii, în ser fiziologic, fără nici un adjuvant, imunizează cobaii în proporţie de 13—31%. Aceste date sînt valabile pentru cobai.

Capacitatea vaccinantă a bacililor morţi şi a secreţiilor bacteriene sterile. În practică, pentru vaccinarea animalelor nu se folosesc, pînă în prezent, decît germenii vii. Experimental însă, animalele au putut fi imunizate fie cu o substanţă bacilară, fie cu bacili omorîţi. Astfel, Tiberti (1904) afirmă că a imunizat iepurii şi cobaii cu o nucleoproteină extrasă din corpul bacililor după procedeul lui Lustig. De asemenea, alţi cercetători, folosind suspensiile de bacili omorîţi prin formol, la care s-au adăogat unele substanţe adjuvante ca: tapioca (Combiescu) sau geloză şi alaun (Ramon), conferă un grad oarecare de rezistenţă animalelor de laborator. Terentiev şi Stefanova (1946) imunizează cobaii şi iepurii cu germeni morţi, puşi în suspensie într-o soluţie de saponină sau în apă fiziologică fără saponină, dar inoculaţi în acest caz pe cale subarahnoidiană. Proporţia de iepuri şi cobai care se imunizează în aceste condiţii este de 50—76%. Bacilii omorîţi prin alcool-eter (Staub şi Forgeot, 1921) sau numai prin eter (Urbain, 1922) conferă, la fel, un oarecare grad de imunitate animalelor de laborator.

Valoarea imunizantă a agresinelor a fost demonstrată de Toussaint (1879), de Roux şi Chamberland în 1888 (sînge cărbunos), de Bail (lichid de edem) în 1905, şi după ei, de numeroşi cercetători, în special de Hruska, în Cehoslovacia. Roux şi Chamberland, aplicînd procedeul Toussaint, imunizează, de exemplu, şapte oi din nouă, cu sînge recoltat din cordul şi splina unui berbec mort de antrax; sîngele înainte de inoculare, era încălzit 4 zile la rînd, cîte 1 oră în fiecare zi, la 58°C. El era injectat în vederea imunizării animalelor, în repetate rînduri, pe cale subcutană. Christmas, citat de Sobernheim, imunizează iepurii cu sînge cărbunos, sterilizat prin oleu de eucalipt. Bail, şi după el alţi cercetători, folosesc ca antigen imunizant lichidul edemelor cărbunoase, care s-a arătat din acest punct de vedere cel mai activ.

La noi în ţară, din îndemnul şi sub îndrumarea profesorului Riegler, s-au făcut o serie de lucrări privind imunizarea cu agresine. Niţulescu (1925), de exemplu, vaccinează iepuri cu emulsii din splina iepurilor morţi de cărbune. Popovici (1929) constată că din 12 cai, injectaţi cu 10—40 ml de lichid de edem sterilizat prin formol, 9 au rezistat la infecţia de control. Autorul mai constată că lichidul de edem formolat îşi pierde capacitatea sa imunizantă după o conservare de 3 luni la rece. Beliovski (1930) obţine rezultate similare folosind o emulsie de splină cărbunoasă, diluată în proporţie de 1/10 cu ser fiziologic formolat 0,4%; 60—160 ml dintr-o asemenea emulsie imunizează 11 cai din 12, iar 15—30 ml de emulsie imunizează iepurii în proporţie de 10%. In unele ţări, vaccinarea cu agresine s-a extins din laborator, pe teren, dar în general, această extindere s-a făcut pe o scară redusă. Imunizarea antiagresinică se practică, în unele ţări, în institutele de seruri, în scopul obţinerii serului anticărbunos.

Se admitea că agresinele, după cum precizase chiar Bail, nu sînt secretate decît in vivo, în organismul animalelor receptive. Cercetările ulterioare au dovedit însă că un principiu echivalent cu agresinele lui Bail, se poate obţine cultivînd bacili fie în bulion peptonat (Basset, 1933), fie mai ales în medii bogate în albumină cum sînt mediile cu albuş sau gălbenuş de ou (Casagrandi, 1900), sau plasmă sanguină oxalatată (Christmas, citat de Sobernheim, Gladstone, 1946, 1956). Filtratul unei culturi de 18 ore, la 37°C, în plasmă sanguină de oaie, de exemplu, are, într-adevăr, ca şi lichidul edemelor cărbunoase, însemnate proprietăţi imunizante. Trei injecţii făcute la 7 zile interval, cu cîte 1 ml, imunizează iepurele faţă de 100 de doze minime mortale de bacili virulenţi. Oaia poate fi imunizată prin trei injecţii de cîte 100 ml filtrat obţinut într-o cultură de bacili ai cărbunelui în plasma sanguină. Serul animalelor, injectate în repetate rînduri, după acest procedeu, nu are însă proprietăţi preventive sau curative (Gladstone). Heckly şi colaboratorii (1949), Boor şi Tresselt (1955), reuşesc să izoleze, prin metode chimice, antigenul imunizant prezent în filtratele culturilor de *Bac. anthracis*. Oile inoculate cu acest antigen, singur sau un amestec cu hidroxid de aluminiu, imunizează animalele de laborator şi oile contra antraxului. Belton şi Strange (1954) obţin, din anumite tulpini şi pe un anumit mediu de cultură, un produs (filtrat) care precipitat cu alaun are o mare putere imunizantă: două injecţii de cîte 0,5 ml imunizează 86 din 92 de iepuri. Wright şi colaboratorii (1954) obţin produsul vaccinant abacterian cultivînd bacteridia pe un mediu sintetic compus din săruri minerale şi 17 aminoacizi. Filtratul unei asemenea culturi imunizează iepurele, cobaiul şi şoarecele. Puziss şi Wright (1954) obţin rezultate asemănătoare folosind un mediu sintetic, fără proteine, dar care conţine un număr însemnat de aminoacizi (leucină, izoleucină, metionină, prolină, fenilalanină şi histidină). Factori importanţi în producţia principiului imunizant sînt pe lîngă aminoacizii citaţi, bicarbonatul de sodiu şi ionii de calciu. Strange şi Belton (1954), în fine, izolează din filtratele imunizante, în mod constant, un poliosid şi o proteină. Aceasta din urmă, în doză de 25 gama, imunizează iepurele faţă de 250 d.l.m.

Serul anticărbunos

O dată stabilit principiul că serul unui animal imunizat are proprietăţi antiinfecţioase, s-au făcut încercări ca să se obţină seruri active faţă de toate infecţile. Unele dintre aceste încercări au reuşit perfect şi au dat medicinei noi mijloace de luptă împotriva infecţiilor. Un asemenea caz de reuşită îl reprezintă şi serul anticărbunos. El a fost preparat, simultan, de Sclavo (1895) şi de Marchoux (1895). Acest din urmă cercetător foloseşte ca animale donatoare de ser iepurele şi oaia. Animalele sînt injectate întîi cu tulpini atenuate, apoi cu tulpini virulente, în doze progresive. Iepurele suportă la sfîrşitul perioadei de hiperimunizare, pe cale subcutană, 20 ml, iar oaia, pe aceeaşi cale, 250—300 ml de cultură de bacili virulenţi în bulion. Animalele, avînd un asemenea grad de rezistenţă, erau sîngerate la 15—21 de zile după ultima injecţie şi serul obţinut avea proprietăţi preventive şi curative. Valoarea preventivă varia de la un ser la altul. Cel mai bun ser a fost obţinut de la oaie şi el proteja iepurele în doză de 1 ml faţă de o infecţie făcută cu $^1/_3$ dintr-un mililitru de cultură de bacili virulenţi în bulion. Această doză omora iepurele-martor în 24 de ore. Infecţia de control era făcută la 24 de ore după injecţia serului. Serurile obţinute pe iepure erau mai puţin active; ele protejau iepurele în doze variind de la 6 la 9 ml. Serul, aplicat simultan cu infecţia este mai puţin eficace şi chiar doze masive şi repetate de ser imun nu salvează decît o parte ($^1/_3$) din iepurii folosiţi în experienţă.

In urma acestor cercetări, serul anticărbunos a intrat în practica curentă a prevenţiei şi mai ales a tratamentului infecţiilor cărbunoase la om şi animale.

Serul anticărbunos se prepară de obicei pe cal, care dă un ser eficace şi puţin toxic. In unele institute se foloseşte, în acelaşi scop, boul pentru prepararea unui ser omolog, avînd aplicaţii în prevenirea şi tratamentul antraxului la bovine şi ovine, specii la care serul de cal, ca orice ser heterolog, poate produce sensibilizări şi şoc anafilactic în caz de repetare a injecţiei.

Tehnica hiperimunizării. Majoritatea biofabricilor se inspiră în prepararea serurilor anticărbunoase din principiile generale stabilite de Marchoux. Se inoculează, întîi, pe cale subcutană sau intradermică, culturi atenuate corespunzînd celor două vaccinuri ale lui Pasteur; apoi, la interval de 7 zile, doze crescînde de cultură virulentă începînd cu a 100-a parte din suprafaţa unei culturi pe agar şi ajungînd pînă la conţinutul unei plăci Roux. Sîngerarea se face la 2—3 săptămîni după ultima inoculare. Animalul stă în repaus 1 lună de zile, apoi i se fac două injecţii de antigen, cîte o cultură pe placa Roux, la interval de 7 zile, pentru a fi din nou sîngerat la 2—3 săptămîni după ultima injecţie.

Dozele mari de cultură fiind rău suportate pe cale subcutană (produc edeme invadante şi caşectizante) sînt administrate pe cale intravenoasă. Bacilii, în vederea injectării lor pe cale intravenoasă, sînt cultivaţi pe agar în plăci Roux; cultura de 24 de ore se spală cu ser fiziologic, suspensia se trece printr-un filtru cu două sau patru straturi de tifon şi apoi se centrifughează 30 de minute la o viteză de 3 000 — 4 000 de turaţii pe minut; depozitul se ia cu ser fiziologic, se pune într-un balon cu perle în care se agită puternic, timp de cel puţin 10 minute. Suspensia astfel obţinută şi lipsită de particule mari, care ar putea produce trombusuri şi moartea animalului, se injectează încet în vena jugulară, cu un ac subţire. Animalul este observat îndeaproape în tot timpul cît durează injecţia şi la cel mai mic semn de intoleranţă (nesiguranţă pe picioare) se întrerupe introducerea antigenului şi animalul este plimbat; injecţia antigenului poate fi mai tîrziu reluată, dacă starea generală a animalului permite. In cazuri grave de intoleranţă se poate administra subcutan eter sulfuric în cantitate de 10—20 ml.

Serul antiagresinic. Hruska a observat să la caii hiperimunizaţi anticărbunos injectarea subcutană a unei cantităţi relativ mici, 5 ml de lichid de edem cărbunos obţinut de la cobai, produce o reacţie locală puternică, însoţită de o ridicare însemnată a valorii serului. Personal, avînd ocazia să titrez serul anticărbunos preparat în mai multe institute europene, am putut să constat că serul preparat de Hruska, la Praga, era cel mai activ. În vederea obţinerii serului, autorul injecta cailor deja hiperimunizaţi cu culturi amestecuri de culturi virulente şi lichid de edem obţinut de la cobai. Kolpikov şi colaboratorii săi, în Uniunea Sovietică, în scopul găsirii unei metode care să permită recolte bogate de lichid agresinic, au recurs la injecţiile intrapleurale la cal. Metoda s-a arătat extrem de bună, ea permiţînd recoltarea, în condiţii de perfectă asepsie, a unui lichid activ, care poate fi folosit în practica preparării serului antiagresenic. Kujumgiev (1940), în Bulgaria, a preparat seruri anticărbunoase folosind ca antigen lichidul agresinic şi culturi virulente. Lichidul agresinic l-a obţinut de la iepuri sau oi. În vederea obţinerii agresinelor, iepurii erau injectaţi subcutan cu culturi virulente, iar oile subcutan sau intrapleural. Injecţiile intrapleurale, cu 1/400—1/500 ml dintr-o cultură în bulion virulentă, omorau mare parte din animale în 13—14 zile. Cantitatea de lichid agresinic recoltat variază după animal: într-un caz, autorul recoltează 65 ml, în altul 80 ml.

Caii hiperimunizaţi, în vederea obţinerii serului antiagresinic, au fost injectaţi în mod variabil. Într-un caz, un cal este injectat subcutan cu 25 ml de lichid agresinic şi 2 zile mai tîrziu cu suspensii din culturi pe agar (cultură de pe suprafaţa a 250 cm² de agar), 6 zile după injectarea culturii, calul este injectat cu 35 ml de lichid agresinic paralel cu o suspensie din cultură pe agar de bacili virulenţi (cultura de pe suprafaţa a 300 cm² de agar). Serul obţinut de la acest cal şi în general de la caii trataţi cu agresine şi culturi a fost mai activ decît serul obţinut de la caii hiperimunizaţi numai cu culturi. Serul obţinut de la animale tratate cu lichid de edem este mai activ decit cel provenit de la caii trataţi cu exudat pleural. Aceste rezultate arată că folosirea agresinelor ridică conţinutul în principii antiinfecţioşi ai unui ser anticărbunos. Obţinerea agresinelor de la animale este o operaţie tehnică dificilă; se pare că din această cauză metoda nu s-a generalizat. Rezolvarea problemei obţinerii agresinelor artificiale ar uşura tehnica preparării serului antiagresinic.

Tulpinile edematogene în prepararea serului imun. Tulpinile necapsulate dar edematogene au o valoare imunizantă inconstestabilă; folosirea lor poate simplifica tehnica preparării serurilor anticărbunoase. Dată fiind importanţa capsulei în dezvoltarea procesului morbid, se poate pune însă întrebarea dacă un ser preparat exclusiv cu tulpini edematogene ar avea aceeaşi valoare preventivă şi curativă ca un ser preparat cu tulpini virulente. Stamatin şi Schaefer (1938—1944) au examinat comparativ valoarea antigenică, pentru iepure, a variantelor mucogene (capsulate pe agar) pe de o parte şi a celor edematogene şi necapsulogene pe de altă parte. Rezultatele obţinute arată că tulpinile edematogene sînt în mod net mai bune antigene şi dau un ser mai activ decît tulpinile mucogene.

Stamatin şi Tacu (1943) au obţinut rezultate similare şi pe cal. Problema a fost reluată în cadrul Institutului de patologie de Stamatin şi colaboratorii (1953), constatîndu-se că animalele hiperimunizate exclusiv cu tulpini edematogene-acapsulogene dau un ser, care atît în titrările pe cobai, cît şi pe cele făcute pe cai, s-a arătat de o eficacitate cel puţin egală cu a serurilor preparate cu tulpini virulente.

Culturile inactivate în prepararea serului. Maleavin (1952) a obţinut un ser activ, folosind ca antigen culturi inactivate de bacili cărbunoşi. Rezultate similare au fost obţinute de Mihin şi Belikov (1918), Smirnov şi Romanov (1934), Kolesov (1940 şi 1952). Asemenea seruri nu au fost încă introduse în practică.

Titrarea serurilor anticărbunoase se poate face pe cobai, iepuri sau pe şoareci.

Titrarea pe cobai. Reuşita titrării pe cobai depinde de tulpina folosită pentru control şi de starea generală a animalelor întrebuinţate. Tulpinile virulente nu dau rezultate, în sensul că serul imun nu poate proteja cobaiul faţă de asemenea tulpini. El îl poate proteja însă faţă de tulpini atenuate, corespunzînd în general vaccinului II pasteurian, adică tulpini constant patogene pentru cobai şi inconstant patogene şi numai în doze mari pentru iepure. Tulpina odată aleasă se păstrează sub formă de spori pe agar uscat sau se folosesc alte mijloace care să asigure conservarea proprietăţilor pe un timp îndelungat.

Starea de întreţinere a animalelor influenţează într-o mare măsură rezultatul titrării. Un ser care protejează cobaiul în timpul verii, de exemplu, în doză de 1 ml faţă de o anumită cantitate de bacili atenuaţi, nu-l mai protejează, în aceeaşi doză, în timpul iernii. Chiar în timpul verii, un animal rău hrănit nu va da aceleaşi rezultate ca un animal care primeşte o raţie completă de hrană. Înlăturarea acestui neajuns legat de animal nu se poate face decît folosind seruri standard. Asemenea seruri se pot păstra sub formă uscată un timp destul de îndelungat şi pot fi preparate de fiecare institut. În cazul cînd un institut nu are un ser standard, el va porni de la seruri imune, preparate pe diverşi cai, pe care le va titra vara pe cobai tineri, bine hrăniţi şi cîntărind 400—500 g. Ca ser standard este ales acela care în timpul verii protejează în doză de 1—2 ml toţi cobaii faţă de 10 doze minime mortale din tulpina folosită pentru control. Viitoarele seruri standard, ca şi serurile imune, se vor titra în raport cu acest prim ser standard.

Pentru titrarea unui ser imun sînt necesari minimum şase cobai, care se împart în trei loturi de cîte doi cobai fiecare lot.

Primul lot se injectează cu cîte 1 ml de ser, al doilea cu cîte 2 ml şi al treilea cu cîte 4 ml. În timpul iernii, dată fiind sensibilitatea cobailor şi de aici capacitatea redusă a serului de a-i proteja faţă de infecţie, se pot folosi opt cobai, injectînd în acest caz şi doza de 8 ml de ser la un al patrulea lot de doi cobai. Serul se injectează subcutan. Injecţia de control se face 24 de ore după injectarea serului într-o regiune diferită de cea folosită pentru inocularea serului. Se recomandă ca serul să fie injectat la unul din membrele posterioare, iar cultura pe faţa ventrală.

Pe lîngă aceşti cobai, care se folosesc la titrarea serului necunoscut, mai sînt necesari 6—8 cobai pentru serul standard şi 2 cobai-martor care se injectează numai cu cultură, tot 10 d.l.m. Cobaii pentru serul standard se injectează în acelaşi fel ca şi cobaii folosiţi la titrarea serului de examinat. Cobaii-martor trebuie să moară în 3—6 zile, cu leziuni de cărbune. Valoarea serului se determină în raport cu rezultatele obţinute la animalele infectate şi comparînd serul de titrat cu serul standard. Un bun ser trebuie să se comporte ca şi serul standard. Metoda pe care o indicăm se inspiră din datele de literatură şi cercetări proprii. Aplicată în bune condiţii dă rezultate satisfăcătoare.

Kolesov (1952) recomandă de asemenea metoda titrării pe cobai. El procedează astfel: patru cobai sînt injectaţi cu cîte 2 ml de ser iar după 24 de ore, fiecare cobai primeşte 500 milioane de germeni atenuaţi (vaccin Ţenkovski II). Un ser este socotit activ cînd în condiţiile date protejează trei din patru cobai injectaţi.

Titrarea pe iepuri a fost recomandată de unii cercetători, dar rezultatele sînt de regulă mai puţin constante, din cauză că acest animal prezintă încă şi o mai mare variabilitate individuală în ceea ce priveşte sensibilitatea faţă de infecţia cărbunoasă. Titrarea pe iepuri nu diferă, în principiu, de titrarea pe cobai.

Se folosesc pentru titrarea fiecărui ser de obicei cinci iepuri, care sînt injectaţi pe cale intravenoasă, respectiv cu 2, 3, 4, 5 şi ultimul cu 6 ml de ser imun; 5—10 minute mai tîrziu iepurii serumizaţi, plus un martor injectat intravenos cu 6 ml de ser normal, sînt injectaţi pe cale subcutană cu cultură virulentă 1/1 000 dintr-o ansă. Un ser are un titru convenabil cînd cel puţin 2 din iepurii injectaţi cu ser imun rezistă la proba de control, iar restul mor mai tîrziu decît martorii.

Titrarea pe şoareci. Popovici şi Wegener (1950) au pus la punct o metodă de titrare a serului anticărbunos pe şoarece, folosind pentru controlul imunităţii germeni edematogeni şi acapsulogeni. Aceştia se inoculează pe cale intrapleurală, 24 de ore după injectarea serului pe cale intraperitoneală. Un bun ser anticărbunos protejează în doză de 0,3 ml 50% din şoarecii inoculaţi intrapleural cu una sau două doze minime mortale.

Injecţia intrapleurală se face cu grijă la şoareci în prealabil anesteziaţi cu eter sau cloroform. Cultura injectată trebuie să aibă temperatura de 30—37°C.

Isopescu şi colaboratorii (1950) observă că serul anticărbunos înhibă dezvoltarea edemelor la şoarecii injectaţi cu germeni edematogeni şi acapsulogeni, şi plecînd de la această observaţie propun o metodă de titrare a serului anticărbunos tot pe şoarece; autorii constată o relaţie între puterea antiinfecţioasă a unui ser pentru cobai şi capacitatea sa antiedemaţiantă pentru şoarece.

Titrarea in vitro, prin determinarea puterii floculante a serului, nu are valoare practică, deoarece nu există relaţii directe între conţinutul de anticorpi protectori şi anticorpi precipitanţi.

Seruri bune protectoare pot fi lipsite de anticorpi floculanţi şi, invers, seruri bogate în anticorpi floculanţi pot fi lipsite de orice valoare protectoare. Relaţiile între cele două funcţiuni ale serului imun nu pot fi decît întîmplătoare. Se poate admite că un animal care fabrică cantităţi importante de anticorpi precipitanţi este în general un bun producător de anticorpi şi că el va produce, în consecinţă, şi anticorpi protectori. Această ipoteză nu pare însă să corespundă în toate cazurile cu realitatea.

Repartiţia anticorpilor în diversele fracţii globulinice din serul imun. Serul anticărbunos are o serie de proprietăţi. Astfel, el opreşte dezvoltarea unei infecţii in vivo, inhibă fermenţii gelatinolitici ai bacteridiei, precipită fracţiunile haptenice de origine somatică sau capsulară etc. Aceste diverse manifestări sînt ele datorite unui singur sau mai multor anticorpi? Cercetările făcute, în special de Tomcsik şi Kopp (1930) şi de Grabar şi Staub (1942), par a arăta că în serul imun anticărbunos se găsesc mai mulţi anticorpi, care nu sînt legaţi de aceeaşi globulină, ci sînt repartizaţi în diversele fracţii globulinice.

Grabar şi Staub arată că precipitinele active faţă de haptena poliozidică somatică sau haptena polipeptidică capsulară se separă complet din ser o dată cu euglobulinele. Serul se amestecă, în vederea separării euglobulinelor, cu 9 volume de apă distilată saturată cu CO_2; după 24 de ore la gheţar, precipitatul se separă prin centrifugare, se dizolvă în ser normal şi amestecul, filtrat, se poate conserva mult timp. Lichidul precipită haptena somatică sau capsulară, dar este lipsit de activitate protectoare. Anticorpii protectori se separă din lichidul de centrifugare rezultat după sedimentarea euglobulinei, precipitate odată cu fracţia pseudoglubulinică prin saturare cu $SO_4(NH_4)_2$. Precipitatul dat de sulfatul de amoniu este luat cu apă distilată, soluţia obţinută este dializată faţă de o soluţie tampon, izotonică, la pH=7,5, pînă la eliminarea sulfaţilor şi apoi este filtrat. Lichidul conţine puţine proteine, dar posedă totalitatea anticorpilor protectori. Fracţia pseudoglobulinică protectoare inhibă în acelaşi timp, activitatea gelatinolitică a bacililor, fără ca autorii să constate vreo dependenţă între cele două acţiuni. Într-adevăr, ei obţin seruri anticărbunoase bune protectoare, care nu inhibă gelatinaza; în acelaşi sens, autorii observă că gelatinaza cărbunoasă este inhibată şi de un ser antiedematiens, deşi un asemenea ser nu este protector faţă de infecţia cărbunoasă. Această din urmă observaţie dovedeşte că gelatinaza bacilului cărbunos nu este specifică şi că ea nu are un rol esenţial în producerea infecţiei.

Pseudoglobulinele conţin, după aceiaşi autori (1944), pe lîngă anticorpii protectori şi anticorpii precipitanţi activi faţă de nucleoproteida prezentă în lichidul din edem şi pe care nu o precipită decît dacă în ser se găsesc şi alţi anticorpi precipitanţi, alături de cei antinucleoproteidici. Autorii admit că anticorpul antinucleoproteidic ar fi răspunzător de efectul protector al serului anticărbunos, el neutralizînd nucleoproteida cu funcţiuni agresinice din lichidul edemului cărbunos.

Utilizarea serului imun în practică. Serul imun este folosit pe teren în prevenirea şi tratamentul cărbunelui la animale şi la om.

Seroprevenţia, aşa cum dovedesc cercetările experimentale, ca şi o lungă aplicare pe teren, dă rezultate în prevenţia cărbunelui la animale.

Doza eficace variază de la un observator la altul. Unii au obţinut rezultate bune cu doze mici, 5—10 ml, alţii cu doze mai mari, 20—30 ml. Judecînd după datele experimentale obţinute la animalele de laborator, precum şi la unele animale domestice, dozele mici sînt inactive şi deci trebuie să recurgem, atunci cînd vrem să asigurăm o prevenţie sigură, la doze mari, 20—40 ml. În condiţii experimentale, o doză de 20 ml de ser a prevenit o infecţie severă la cal (Stamatin şi col., 1953).

Speciile animale variază în ceea ce priveşte capacitatea lor de a folosi activitatea preventivă a serului imun. Dintre animalele domestice, oaia pare că foloseşte cel mai puţin serul imun. Cercetările făcute, în această direcţie de Isopescu, au arătat că la acest animal nu se poate realiza o protecţie faţă de infecţia experimentală decît cu doze mari. Rezultatele obţinute de autor pot fi rezumate după cum urmează :

1. Serul imun, preparat pe cal, nu are pentru oaie nici o valoare protectoare în doză de 10 ml ; în doză de 20 ml întîrzie moartea animalului, iar în doză de 40—60 ml îl protejează faţă de o infecţie subcutană făcută cu cinci doze minime mortale.
2. Serul imun preparat pe bou este şi mai puţin activ ; el nu exercită o acţiune protectoare în doză de 10 şi 20 ml. Într-un caz, doza de 40 ml a protejat animalul, dar în alt caz, doza de 60 ml a fost inactivă.
3. Serul normal de cal sau bou nu are la oaie nici o acţiune protectoare în doză de 60 ml.
4. Animalele serumizate şi infectate 24 de ore mai tîrziu fac febră, 41—42°C, chiar cînd rezistă definitiv la infecţia de probă.

Aceste date au fost confirmate de unele observaţii minuţioase făcute pe teren. Astfel, în cursul unei epizootii la oi nu s-a obţinut nici un rezultat injectînd animalele cu 5—10 şi chiar 30 ml de ser imun. Unii practicieni afirmă că au obţinut bune rezultate cu doze mici, dar aceste rezultate nu sînt datorite serului, ci condiţiilor de evoluţie a epizootiei. Se observă, într-adevăr, în unele turme, apariţia cîtorva cazuri de antrax şi apoi boala încetează înaintea oricărei intervenţii medicale.

Durata imunităţii pasive, conferite de ser, nu este stabilită cu precizie. Se afirmă de unii cercetători că ea este foarte lungă, cîteva săptămîni sau chiar luni. Valoarea acestor afirmaţii rămîne să fie verificată prin cercetări experimentale.

Seroterapia a adus şi aduce încă importante servicii în tratamentul cărbunelui la animale şi la om. Eficacitatea ei la om, ca şi la bovine, cabaline şi porcine, este demonstrată. Totuşi, anumite forme de antrax la cal — glosantraxul, septicemiile grave — nu pot fi vindecate prin serul anticărbunos. Oaia este foarte sensibilă la infecţia cărbunoasă şi evoluţia bolii la acest animal nu poate fi influenţată prin tratamentul cu ser, chiar cînd se fac doze masive. Serul este, de asemenea, ineficace în tratamentul infecţiei cărbunoase experimentale la animalele de laborator — cobai, iepure, şoarece.

Serul normal. O serie de cercetători şi în special Kraus şi colaboratorii (1921) au afirmat că serul normal al unor animale poate avea aceeaşi acţiune ca şi serul imun şi au recomandat chiar folosirea serului normal de bou în tratarea cărbunelui. Activitatea anticărbunoasă a unor seruri normale este, după datele ce le posedăm, întîmplătoare şi, în consecinţă, serul normal nu poate fi folosit în tratamentul cărbunelui. Mihăilescu (1941), obţine foarte rar protecţia animalelor de experienţă, faţă de antrax, cu ajutorul serului normal. Nu e exclus însă ca serul normal să dea unele rezultate la om la care se pot obţine vindecări, mai ales în cazurile benigne, fără nici un tratament sau cu substanţe nespecifice. Fulga (1948), de exemplu tratează antraxul la om cu soluţii de peptonă.

Tratamentul antraxului prin substanţe chimice şi antibiotice

Serul imun a fost mult timp singurul mijloc eficace de tratament al cărbunelui, atît la om, cît şi animale. În lipsa lui s-a recurs la folosirea unor substanţe cu acţiune antiseptică generală, ca fenolul, creolina, electrargolul, formolul, dar rezultatele obţinute au fost, în general, negative. Din vechile produse chimice folosite, neosalvarsanul merită o menţiune specială. El este bactericid in vitro şi la animale are o acţiune antiinfecţioasă netă. Acest compus arsenical este bactericid faţă de formele vegetative, chiar în diluţie de 1/50 000. Asemenea concentraţii de substanţă se pot realiza uşor in vivo, ceea ce explică eficacitatea produsului. În infecţia experimentală a cobaiului, Kurotkin şi Reimann vindecă 12 cobai din 24, folosind doze de neosalvarsan variind de la 5 la 20 mg. În aceleaşi condiţii de lucru (tratament postinfecţios) serul imun nu a putut salva nici un cobai. În clinica umană, neosalvarsanul a dat rezultate bune. Becker comunică un caz de cărbune uman — hemoculturi pozitive — care a fost vindecat prin injecţii cu neosolvarsan 0,6 g. Grasser, în 1924, publică date cu privire la eficacitatea neosalvarsanului în tratamentul cărbunelui uman. El a tratat 54 de cazuri cu doze de neosalvarsan variind de la 0,45 la 0,60 g şi a obţinut 50 de vindecări. Aceste rezultate au făcut ca neosalvarsamul să fie folosit, paralel cu serul imun, în tratamentul cărbunelui la om. La animale, el a fost folosit pe o scară mai puţin întinsă şi atunci cînd s-a folosit, rezultatele obţinute au fost mai puţin bune decît la om.

Rezultate bune s-au obţinut şi cu unele substanţe colorante. Astfel, în condiţii experimentale, pe cobai, Sterne salvează 20 de cobai din 36, injectîndu-le, zilnic, cîte 1 ml de soluţie 0,5% violet de genţiană.

Chimioterapia infecţiei cărbunoase intră într-o nouă fază prin sintetizarea sulfamidelor şi descoperirea antibioticelor. Diverse sulfamide au fost cercetate cu privire la acţiunea lor antiinfecţioasă. Prontozilul s-a arătat ineficace şi incapabil să prevină şi, cu atît mai mult, să vindece infecţia la cobai. Sulfanilamida, în doze mari, este activă în infecţia experimentală a cobaiului. Sterne (1942) examinează paralel, pe cobai, activitatea curativă a serului imun şi a sulfapiridinei. Cobaii sînt infectaţi cu 50 d.m.l. din cultura unei tulpini de vaccin Pasteur II. Tratamentul începe 1 oră după infecţie şi el constă din administrarea zilnică şi timp de 11 zile, respectiv a 0,2 g de sulfapiridină sau 2 ml de ser imun. Rezultatele obţinute au arătat că sulfapiridina este superioară serului. Într-adevăr, din zece cobai trataţi cu sulfapiridină, unul moare în a şasea zi după infecţie, iar din zece cobai trataţi cu ser mor şapte, şi anume: unul după 5 zile, patru după 6 zile şi doi după şapte zile. Cobaii trataţi cu sulfapiridină sau cu ser şi care au rezistat au fost supuşi unei infecţii de control 3 săptămîni mai tîrziu. Cobaii trataţi cu ser rezistă, dar cei cu sulfapiridină mor.

Acţiunea antiinfecţioasă a sulfapiridinei este mai puţin manifesă cînd tratamentul începe la 3 ore sau mai mult după infecţie. Totuşi în aceste cazuri se obţin rezultate pozitive, dacă substanţa în prealabil solubilizată este injectată în edem.

Aceste date au făcut ca sulfamidele, în special sulfapiridina şi sulfatiazolul, să fie introduse, mai ales în clinicile umane, şi folosite singure pentru cazurile benigne şi în asociaţie cu serul imun pentru cazurile mai grave. Rezultatele obţinute au fost bune. Unele date arată că sulfadiazinele sînt încă şi mai eficace decît sulfatiazolul şi sulfapiridina.

Penicilina s-a arătat mai activă decît sulfamidele. Astfel, ea împiedică într-o proporţie de 50%, infecţia la şoareci. Rezultatele obţinute pe teren au fost în general, bune. Un clinician comunică, de exemplu, că folosind penicilina singură sau în asociaţie cu serul imun vindecă 89 de bovine din 96 bolnave. Asocierea penicilinei cu sulfamidele dă, de asemenea rezultate satisfăcătoare. La bovidee sulfamidele se administrează 3 zile consecutiv, respectiv în doze de 60, 50 şi 50 g, iar penicilina, tot 3 zile, respectiv, în doze de 200 000, 100 000 şi 100 000 U.I. Doza de penicilină variază în raport cu gravitatea cazului. In formele avansate, cu hemoculturi pozitive, nu s-au obţinut vindecări la bovine sau cabaline decît cu doze mari, 2—3 milioane U.I. După Bailey (1953) rezultatele, chiar cu doze mari de penicilină, nu sînt totdeauna bune şi recomandă să se asocieze penicilina cu teramicina. La om, penicilina dă rezultate bune şi un tratament făcut timp de 1 săptămînă, cu cîte 250 000 U.I. zilnic, asigură vindecarea bolii (Anter, 1953).

Streptomicina, după unele date experimentale, este mai activă in vivo decît sulfamidele sau penicilina. Ea vindecă infecţia experimentală la şoareci în proporţie de 92%. În aceleaşi condiţii de lucru, penicilina salvează 50%, iar sulfamidele 5%. Viomicina şi neomicina (Deom şi col., 1955) sînt de asemenea active atît in vitro, cît şi in vivo şi pot fi folosite în tratamentul bolii.

Substanţele chimice sau antibiotice nu au reuşit să înlocuiască însă total serul imun, aşa că acesta rămîne încă un preţios mijloc terapeutic.

Profilaxia cărbunelui

Consideraţii generale. Măsurile de combatere a unei infecţii trebuie coordonate în aşa fel, încît să ducă într-un timp cît mai scurt la dispariţia infecţiei respective. O asemenea coordonare s-a făcut şi s-a aplicat cu perseverenţă în unele infecţii, obţinîndu-se rezultate pozitive. Astfel, morva a dispărut în multe ţări, iar la noi, în urma aplicării stricte a măsurilor de combatere, este pe cale de dispariţie. Eradicarea morvei a fost o operaţie relativ uşoară. Boala dispare o dată cu ultimul caz de infecţie. Distrugînd animalele infectate se distruge izvorul de infecţie, deci şi boala şi, cum numărul animalelor bolnave nu atinge proporţii prea mari, sacrificarea lor este posibilă. Măsuri similare au dus la reducerea procentului de bovine tuberculoase şi vor duce, în viitor, la dispariţia totală a acestui periculos flagel. Asemenea metode nu pot fi aplicate însă tuturor infecţiilor. Morva şi tuberculoza la animale se pot lichida, pentru că agenţii lor etiologici sînt paraziţi obligatorii. Problema se complică atunci cînd agentul etiologic al bolilor pe care vrem să le eradicăm este universal răspîndit, el găsindu-se în organism ca şi în afara lui, în mediul ambiant. Acesta este şi cazul infecţiei cărbunoase. Agentul etiologic al antraxului se găseşte în natură, unde rezistă un timp îndelungat şi unde este foarte probabil că se şi înmulţeşte. Măsurile de eradicare trebuie să prevină nu numai infecţia animalului dar trebuie să ducă şi la distrugerea germenului în natură, ceea ce în prezent, în cazul bacilului cărbunelui este încă greu de realizat în toate cazurile. Cultivarea terenurilor contaminate atunci cînd este posibil, realizează o reducere simţitoare a numărului de germeni din sol. Mijloacele de combatere a antraxului, în faza actuală a cunoştinţelor noastre, nu sînt dirijate contra germenilor din natură, ele tinzînd mai mult să împiedice răspîndirea şi îmbogăţirea mediilor naturale în germeni, ceea ce se realizează prin imunizări şi măsuri sanitare.

Profilaxia specifică. *Imunizarea activă* constituie, în ansamblul măsurilor specifice de combatere a cărbunelui, unul din factorii cei mai importanţi. Operaţia are un scop imediat şi altul mai îndepărtat. Scopul imediat este acela de a reduce mortalitatea printre animalele receptive. Realizînd acest scop imediat se contribuie însă şi la atingerea scopului mai îndepărtat şi final: dispariţia bolii; reducînd numărul cazurilor de antrax la animale se reduce, într-adevăr un izvor sigur şi important de îmbogăţire a solului în spori.

Vaccinarea anticărbunoasă trebuie făcută în aşa fel încît infecţia să dispară, deşi terenul este infectat. Acest rezultat nu se poate obţine decît prin vaccinări repetate, la intervale scurte de timp. Nu trebuie aplicată în această problemă, o metodă şablon. Medicul veterinar trebuie să-şi cunoască regiunea şi să aplice vaccinul în condiţii care să împiedice apariţia antraxului. Procedînd astfel şi prelungind acţiunea un timp suficient de lung, 10 ani sau mai mult, se va ajunge la dispariţia sporilor în terenurile respective. Neavînd ocazia să se înmulţească în organismul animalelor sensibile şi fiind supuşi acţiunii distructive a factorilor fizici, chimici şi biologici din mediu, sporii, foarte probabil, vor trebui în cele din urmă să dispară.

Imunizarea preventivă se poate face în orice timp al anului, neexistînd nici o contraindicaţie în legătură cu anotimpurile, animalele vaccinîndu-se în condiţii aproape egale, vara ca şi iarna, primăvara ca şi toamna. Unii cercetători sovietici (Terentiev şi Starţev) preconizează însă vaccinările de toamnă, care ar prezenta însemnate avantaje. Astfel în acest sezon, animalele sînt în cea mai bună stare de întreţinere, avînd deci o reactivitate maximă ceea ce permite, în primul rînd, imunizarea lor în condiţii optime; în al doilea rînd, acest procedeu evită accidentele de vaccinare care, după cum am mai văzut, se produc la animalele cu însemnate deficienţe organice, aşa cum sînt unele animale la sfîrşitul iernii. In plus, în acest sezon medicii veterinari şi muncitorii agricoli sînt mai liberi, ceea ce face ca procentul animalelor neprezentate la vaccinare să fie mult mai mic decît primăvara. Vetlujski a aplicat acest procedeu timp de 8 ani şi rezultatele obţinute au fost foarte bune.

La noi în ţară, această problemă nu a preocupat, pînă în prezent, cercurile ştiinţifice veterinare şi se practica acum ca şi în trecut vaccinarea de primăvară, în care animalele rău iernate reacţionează probabil mai slab la vaccin, stînjenindu-se, în acelaşi timp, într-o oarecare măsură, muncile agricole. Vaccinarea de primăvară se face în lunile februarie, martie, aprilie, mai, astfel că în momentul cînd animalele ies la păşune, ele sînt deja imunizate şi la adăpost de infecţie care, la noi în ţară, în enorma majoritate a cazurilor, se face la păşune.

Vaccinarea preventivă constituie mijlocul principal de combatere a antraxului. Pentru a ilustra această afirmaţie, dăm sub formă de tabel, datele statistice, privind întinderea infecţiei şi numărul animalelor vaccinate, comparativ, în România, în anii 1938 şi 1952.

Tabelul 57

Intinderea infecţiei şi numărului de animale vaccinate, comparativ, în anii 1938 şi 1952

1938			1952		
Curţi infectate	Pierderi	Animale vaccinate	Curţi infectate	Pierderi	Animale vaccinate
5 258	11 507	560 688	650	950	6 097 478

Reiese din aceste date că există un raport invers între numărul animalelor vaccinate şi întinderea infecţiei cărbunoase. Intr-adevăr, în 1952, datorită în special extinderii vaccinărilor, s-a redus enorm cifra pierderilor şi numărul curţilor infectate în raport cu 1938.

Imunizarea sau vaccinarea de necesitate. Vaccinarea este bine să se aplice efectivelor indemne, adică animalele să fie injectate înainte de apariţia bolii. In cazul cînd boala a apărut, vaccinul constituie totuşi unul din cele mai importante mijloace de combatere. In efective infectate, s-a recomandat, în trecut, chiar la noi în ţară, serumizarea preventivă a întregului efectiv contaminat, vaccinarea făcîndu-se numai cîteva zile mai tîrziu. Dozele de ser recomandate şi folosite erau mici, 5 ml pentru oaie şi 10 ml pentru bovine şi cai şi, în general, nu puteau asigura protecţia animalelor. In plus, operaţia era complicată, cerea multe intervenţii, consuma mult material şi de aceea s-a renunţat la ea. Riegler prescria, încă din 1917, ca în efectivele infectate să se injecteze de-a dreptul vaccin la toate animalele nefebrile, animalele febrile urmînd a fi tratate cu ser. Cele nefebrile şi vaccinate sînt urmărite îndeaproape, luîndu-li-se, în special, temperatura de trei ori pe zi, timp de 3 zile după vaccinare, interval de timp în care un bun vaccin duce la instalarea unei suficiente imunităţi active. Animalele care prezintă febră, în primele 3 zile după vaccinare sînt considerate bolnave de antrax şi tratate cu ser. Procedeul permite descoperirea din timp a infecţiei, serul dînd, în aceste condiţii, rezultate bune. Aplicînd acest procedeu cu ocazia unei epizootii grave de antrax apărute în 1928, în centrul Transilvaniei, Ioan obţine rezultate satisfăcătoare. Termometria îi permite să descopere 1 976 de animale bolnave (1 766 de vaci, 167 de cai şi 43 de bivoliţe), din care, prin tratamentul cu ser imun, în doze repetate de 80, 150, 200 şi 250 ml vindecă 1 883. Au murit 93 de animale, şi anume: 20 de cai, 63 de bovine şi 11 bivoliţe. Procentul de mortalitate, cel mai mare, a fost la bivoliţe şi cai.

Accidente de vaccinare. Tulpinile pasteuriene au dat şi dau frecvent accidente de vaccinare, care sînt datorite fie unei marcate virulenţe a tulpinilor folosite la prepararea vaccinurilor, fie acţiunii unor altor germeni decît cei vaccinali şi cu care vaccinul este infectat, fie valorii imunizante reduse a vaccinului. Accidentele din prima categorie sînt cele mai grave şi ele s-au produs atît în Franţa, în primii ani de aplicare a vaccinului, cît şi în Rusia şi alte ţări. Pentru a evita asemenea accidente s-a redus treptat virulenţa tulpinilor, fără însă a se exclude total accidentele. Soituz şi colaboratorii, citaţi de Isopescu (1949), au constatat, într-adevăr, accidente de vaccinare la oi injectate cu un vaccin preparat dintr-o tulpină de tip pasteurian, care era apatogenă pentru cobai, dar producea o infecţie septicemică la şoarece. Pentru a evita asemenea accidente, în multe ţări s-au înlocuit tulpinile pasteuriene cu tulpini de tip Stamatin-Sterne. Acest fel de tulpini produc însă şi ele accidente, însă în proporţii mult mai reduse şi, în general, lipsite de gravitate. Sterne (1946) a arătat că accidentele produse de vaccinurile preparate din tulpini acapsulogene sînt numeric reduse. In U.R.S.S., după Solei (1949), s-au produs, în turme de oi inoculate cu vaccin Sti, în condiţii climatice cu totul neprielnice, unele accidente mai grave, mortalitatea atingînd cifre de 3—9%. In R.P.R., în urma aplicării vaccinului preparat din tulpina 1 190 R, Isopescu (1949) a înregistrat cîteva rare accidente. Astfel, el citează cazul unei vaci gestante care după vaccinare a fost ţinută 24 de ore în ploaie; animalul a reacţionat puternic şi un edem întins s-a format la locul de inoculare; edemul însă s-a retras în urma injecţiei serului anticărbunos şi a neosalvarsanului. Isopescu a mai înregistrat şi cîteva accidente — edeme invadante locale — la cai, dar care au cedat la intervenţia cu ser. Accidentele înregistrate la oi nu au fost datorite niciodată vaccinului.

Absenţa unei imunităţi satisfăcătoare, în urma inoculării diverselor vaccinuri, s-a semnalat de asemenea adeseori; se întîmplă uneori ca la 1—2 luni după vaccinare un animal să moară de cărbune; infecţia în aceste cazuri, poate fi datorită fie inactivităţii vaccinului, fie infecţiei cu o doză masivă de germeni, doză care a rupt imunitatea normal instalată. Lipsa de eficacitate a vaccinului poate fi datorită condiţiilor în care se aplică vaccinul sau lipsei de reactivitate a organismului vaccinat. Animalele în stare areactivă se pot frecvent întîlni şi acestui lucru i se datoreşte, foarte probabil, de cele mai multe ori, lipsa de eficacitate a vaccinului.

Profilaxia nespecifică. Măsurile sanitare tind să împiedice, după cum am mai spus, îmbogăţirea pămîntului în bacili şi răspîndirea infecţiei printre oameni şi animale prin intermediul produselor infectate. Antraxul, conform prevederilor legale, este o boală declarabilă. Sacrificarea prin sîngerare a animalelor bolnave de antrax, precum şi intervenţiile medicale care ar putea contribui la răspîndirea germenilor sînt şi trebuie să fie cu cea mai mare stricteţe interzise. Cadavrele animalelor moarte de antrax nu se autopsiază decît atunci cînd medicul veterinar socotește necesar. Autopsia, în acest caz, se face la cimitirul de animale. Cadavrele autopsiate sau nu, se îngroapă cu piele cu tot. Folosirea produselor — piei, păr, lapte — provenind de la animalele moarte de antrax este interzisă. În cazul cînd totuși aceste produse ajung în comerț, ele nu pot fi folosite în industrie decît după ce au fost supuse unor operații care asigură dezinfectarea lor. Sterilizarea lor se poate face prin diverse procedee (Poliakov, 1950, Haller și Heicken, 1942).

Legea reglementează circulația produselor și a animalelor în locurile în care se găsesc animalele bolnave sau suspecte de boală. Gunoiul, furajele și tot ce provine de la animalele bolnave sau suspecte se distrug prin ardere sau se dezinfectează. Apele de la tăbăcării și de la alte industrii care folosesc produse animale ce ar putea conține bacili sau spori trebuie să fie sterilizate înainte de vărsarea lor în rîuri.

Supravegherea sanitară apropiată și aplicarea cu cea mai mare severitate a măsurilor de distrugere a oricărui material infecțios, constituie factori importanți în lupta împotriva antraxului la animale și om.

BIBLIOGRAFIE

AGATA J. — Asupra vaccinării anticărbunoase cu bacili foarte virulenți amestecați în prealabil cu cultură în bulion de bacil piocianic. *Ann. Inst. Pasteur,* 1910, 24, p. 330.

AITOFF M. — Inocularea cărbunelui prin mucoasa conjunctivală. *Ann. Inst. Pasteur,* 1922, 36, p. 567.

ALEXANDRESCU D. — Cîteva fenomene alarmante ce se observă uneori la cornutele mari în timpul vaccinațiunii anticărbunoase. *Arhiva veterinară,* 1907, 4, p. 383.

ALEXANDRESCU D. — Accidente în serovaccinația contra cărbunelui bacteridian. *Arhiva veterinară,* 1908, 5, p. 235.

ALTIERI M. — Vaccinarea și hiperimunizarea caprei contra cărbunelui. *Atti. Soc. ital. Sci. Veter.* 1953. 7 p. 996.

ANGHELOF ST. și KUJUMGIEV I. — Contribuție la problema preparării unui ser precipitant care poate fi folosit în serodiagnosticul antraxului. *Jahrbuch der Universität* Sofia, *Vet. Med. Fakultät,* 1935—1936, 12, p. 135.

ANNAGHIEV A. A. — Izolarea B. anthracis din probe de pămînt. *Veterinaria,* 1954, nr. 7, p. 34.

ANTER G. — Contribuții la studiul cărbunelui cutanat în Maroc. *Bull. Inst. Hyg. Maroc,* 1953, 13, p. 53—101.

APOSTOLEANU E. și IONESCU AL. — Un caz clinic de cărbune extern la cîine. *Arhiva veterinară,* 1923, 17, p. 87.

ARHIPOV V. V. — Despre posibilitatea de distrugere a agentului etiologic al antraxului în plante furajere. *Veterinaria,* 1951, 3, p. 33.

ASCOLI A. — Reacția de precipitare în diagnosticul cărbunelui. *La clinica Vet.* 1911, nr. 1; *Z. f. Immunitätsf.,* 1911, 11, p. 103; *Zbl. f. Bakt.,* 1911, 58, nr. 2; *B. T. Wschr.,* 1911, nr. 32.

ASCOLI A. şi VALENTI — Reacţia de precipitare în diagnosticul antraxului. *Atti della Soc. Italiana di Scienze Naturali,* Vol. 49.

BAILEY W. W. — Terapia cu antibiotice în antrax *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 1953, 122, p. 305 şi 1954, 124, p. 296.

BĂLTEANU I. — Infecţia cărbunoasă şi imunitatea anticărbunoasă la iepuri şi cobai. *Ann. Inst. Pasteur,* 1922, 36, p. 805.

BĂLTEANU I., TOMA A. şi CARAGULI A. — Principiul edematogen şi alergia cărbunoasă. *Arch. Roum. Path. Expér.,* 1943, 13, p. 133.

BASSET J. — Imunizarea contra cărbunelui bacteridian prin produse solubile nepatogene din culturi tinere. *C. R. Soc. Biol.,* 1933, 112, p. 173.

BELTON F. C. şi STRANGE R. E. — Studii asupra antigenului protector produs in vitro de B. anthracis. Medii şi metode de producere. *Brit. J. exp. Path.,* 1954, 35, p. 144.

BERT P. — Noi cercetări asupra cărbunelui. *C. R. Soc. Biol.,* 1876, 28, p. 380 şi 1877, 29, p. 19.

BESREDKA A. şi TRÉVISE Y. — Despre vaccinarea cobaiului contra cărbunelui. *Ann. Inst. Pasteur,* 1922, 36, p. 562.

BOQUET A. şi SAENZ A. — Încercări de vaccinare a şoarecelui alb contra infecţiei cărbunoase. *C.R. Soc. Biol.,* 1930, 103, p. 578.

BOQUET A. şi SAENZ A. — Mecanismul infecţiei cărbunoase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1933, 50, p. 311.

BOOR K. A. şi TRESSELT B. H. — Protecţia oilor contra antraxului cu un antigen preparat in vitro. *Am. J. Vet. Res.,* 1955, 16, p. 425.

BORDET J. şi RENAUX E. — Influenţa calciului asupra evoluţiei culturilor de cărbune. *Ann. Inst. Pasteur,* 1930, 45, p. 1.

BRAUELL — Încercări şi cercetări privind antraxul. *Virchows Archiv,* 1857, 2, p. 151

BROWN E. R. şi CHERRY W. B. — Identificarea B. anthracis prin bacteriofag. *J. inf. Dis.,* 1955, 96, p. 34.

BUICULESCU H. N. — Diagnosticul cărbunelui prin reacţia Ascoli. *Arhiva veterinară* 1914, 11, p. 139.

BURDON L. K. — Patogenitatea potenţială a „B. cereus" şi relaţiile sale cu B. anthracis. *J. Bact.,* 1947, 54, p. 58.

BUZA L. — Cercetări asupra virulenţei bacilului cărbunelui. *Zbl. f. Bakt.,* 1940, 146 p. 18.

CERNAIANU C. — O epizootie de cărbune la purcei. *Arhiva veterinară,* 1922, 15, p. 118

CERNAIANU C. şi SUHĂTEANU S. — Asupra receptivităţii diverselor ţesuturi pentru cărbunele experimental. *C. R. Soc. Biol.,* 1924, 90, p. 869.

CHABERT — Tratat de cărbune sau antrax la animale. Paris, 1790.

CHAMBERLAND CH. şi ROUX E. — *C. R. Acad. Sci.,* Paris, 1883, p. 1090.

CHAMBERLAND CH. — Rezultatele practice ale vaccinării anticărbunoase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 301.

CHIŢIMIA E. — Contribuţii la studiul vaccinaţiei antianafilactice în seroterapia anticărbunoasă. *Arhiva veterinară,* 1910, 7, p. 337 şi 1911, 8, p. 10.

CÎRSTEŢ I. — Influenţa diverselor condiţii de cultivare asupra virulenţei bacteridiei cărbunoase. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1949

CIUCĂ AL. şi IONESCU C. — Epidemia de cărbune bacteridien din jud. Constanta *Revista ştiinţelor medicale,* 1907, p. 468.

CIUCĂ AL. şi STOICESCU G. — Diagnosticul bacteriologic al cărbunelui prin culturi din piele. *Arhiva veterinară*, 1909, 8, p. 71 şi *C. R. Soc. Biol.*, 1909, 67, p. 140.

CIUCĂ AL. şi TENEA G. — Cercetări asupra diagnosticului post-mortem al cărbunelui bacteridien, prin examenul bacteriologic al materiilor fecale. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, 67, p. 301.

CLAISSE R. şi PESTEL M. — Meningită cărbunoasă supraacută. *Bull. Mém. Soc. Med. Hopit.*, 1947, 63, p. 313.

COMBIESCU D. — Cercetări asupra mecanismului infecţiei cărbunoase. Rolul pielii în infecţia cărbunoasă. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, p. 640.

COMBIESCU D. — Asupra receptivităţii pulmonare în cărbune. *C. R. Soc. Biol.*, 1924, 90, p. 752.

COMBIESCU D. — Cercetări experimentale asupra infecţiei cărbunoase şi imunităţii anticărbunoase. *Arch. Roum. Path. expér.*, 1928, 1, p. 81 şi p. 341.

COMBIESCU D. — Asupra reacţiei alergice cutanate produsă prin bacteridia cărbunoasă la cobai. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, p. 128.

COMBINESCU D., SORU E. şi STAMATESCU — Substanţele solubile specifice ale bacteridiei cărbunoase. Proprietăţi chimice şi biologice. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, 102, p. 1124.

COMBIESCU D., SORU E. şi STAMATESCU — Contribuţii la studiul substanţelor solubile specifice (antigen rezidual) ale bacteridiei cărbunoase. *Arch. Roum. Path. Expér.*, 1929, 2, p. 291.

COMBIESCU D. şi col. — Contribuţii la studiul antigenilor Forssman. Prezenţa antigenului heterofil la bacteridia cărbunoasă *Arch. Roum. Path. expér.*, 1930, 3, p. 241.

CORNELSON D., TOMA A. şi CONSTANTINESCU N. — Sensibilitatea cerebrală a animalelor considerate refractare faţă de infectia cărbunoasă. Academia R.P.R. Buletin ştiinţific. *Ştiinţe medicale*, 1949, 1, p. 623.

CORNELSON D., TOMA A. şi CONSTANTINESCU N. — Meningoencefalita cărbunoasă experimentală la animale considerate refractare faţă de B. anthracis. *Analele Academiei R.P.R. Ştiinţe medicale*, 1950, 2, p. 637.

CORNELSON D., CONSTANTINESCU N., TOMA A. şi DRAGOMIR C. — Mecanismul imunităţii în infecţia cărbunoasă. *Studii şi cercetări ştiinţifice, Academia R.P.R.*, filiala Iaşi, 1951, 2.

COWLES P. B. — Bacteriofag pentru B. anthracis. *J. Bact.*, 1931, 21, p. 161.

DAVAINE — Cercetări asupra infuzorilor sîngelui în boala cunoscută sub numele de „sang de rate“ *C. R. Acad. Sci.*, 1863, 57, pp. 320, 351, 386 şi 1864, 59, p. 393.

DEMETRIAN I. D. — Un caz de antrax la lup. *Revista de medicină veterinară*. 1900, nr. 3, p. 101.

DIMA G., VASILIU E. şi PAVEL M. — Cîteva cazuri de septicemie cărbunoasă la cîine şi pisică. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie*, 1947, nr. 1—6.

DEOM J. şi MORTELMANS J. — Sensibilitatea B. anthracis şi E. rhusiopathiae la viomicynă şi neomicină. *Rev. d'Immunologie*, 1955, 19, p. 346 şi 352.

DRAGOMIR C. — Infecţia experimentală şi vaccinarea anticărbunoasă la pisică. *Arhiva veterinară*, 1929, 21, p. 111.

FULGA C. — Forma erisipelatoasă a cărbunelui cutanat. *Revista ştiinţelor medicale* 1947, 36, p. 109.

FULGA C. — Peptona în tratamentul cărbunelui cutanat. Revista ştiinţelor medicale 1948, 37. p. 170.

GAMALEIA N. — Studii asupra vaccinării anticărbunoase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, 2, p. 517.

CASAGRANDI — *Ann. di igiene sperim.*, 1900 şi 1902.

CHRISTMAS citat de SOBERNHEIM — în *H de Path. Mikroorg.*, 1913, ed. II vol. III, p. 675.

GEORGESCU I. C. — Un caz de antrax subacut la cal. *Arhiva veterinară,* 1910, 7, p. 360.

GERLACH — Antraxul oilor. *Magazin für Tierheilkunde,* 1845, 17, p. 113, p. 241 şi p. 385 şi 1846, 12, p. 321.

GHINSBURG N. N. — Vaccinul anticărbunos „Sti". *Veterinaria,* 1942, 25, nr. 11.

GHINSBURG N. N. — Vaccinul anticărbunos „Sti". *Sbornik rabot naucino — issledovatelskogo instituta epidemiologhii i ghighienî. Krasnoi Armii, Medghiz,* 1946.

GLADSTONE G. — Imunitatea în antrax; prezenţa antigenului protector în filtratele de cultură fără celule. *Brit. J. Exp. Path.*, 1946, 27, p. 394.

GLADSTONE G. — Antigenul protector în antrax. *Brit. Med. J.*, 1954, mai, p. 1263.

GLEEN VAN NESS şi STEIN D. C. — Solurile din Statele Unite care favorizează antraxul. *J. A. Vet. Med. Ass.*, 1956, 128, p. 7.

GORET P. şi MARIETTE C. — Receptivitatea dihorului (Putorius furo L,) faţă de Bacteridia cărbunoasă. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 128, p 967.

GORET P. şi col. — Febra cărbunoasă la tigru. *Réc Méd. Vét.*, 1947, 123, p. 507.

GRABAR P. şi STAUB A. M. — Fracţionarea serului anticărbunos de cal. *Ann. Inst. Pasteur,* 1942, 68, p. 355, 1944, 70, p. 129, 1947, 73, p. 1.

GROSU G. — Incercări de preparare a unui ser anticărbunos, precipitat prin injecţiune intradermică. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1926.

GULIEV P. — Imbolnăvirea cailor de antrax în urma vaccinărilor de necesitate cu vaccin „STI". *Veterinaria,* 1951, nr. 5, p. 35.

HALLER E. şi HEICKEN K. — Cercetări privind combaterea antraxului în industrie. Acţiunea microbicidă a acidului sulfuric şi a sărurilor acidului sulfuric cu şi fără adaos de sare asupra sporilor cărbunoşi, la diferite temperaturi *Z. f. Hyg. Infektionskr.*, 1941, 123, p. 177.

HALLER E. şi HEICKEN K. — Cercetări privind combaterea antraxului în industrie; dezinfecţia părului prin vapori de apă. *Zbl. f. Bakt.*, 1941, 147, p. 209.

HECKLY R. J. şi col. — Studii asupra infecţiei cu B. anthracis. VIII. Producţia unui antigen imunizant in vitro. *J. inf. Dis.*, 1949, 84, p. 92.

HRUSKA GH. — Cercetări experimentale asupra cărbunelui. *Ann. Inst. Pasteur,* 1925, 39, p. 897, 1926, 40, p. 62, 1926, 40, p. 710, 1927, 41, p. 72.

HRUSKA K. — Rolul traumatismului în cazul infecţiei cărbunoase a iedului pe cale digestivă. *C. R. Acad. des Sciences,* Paris, 1928, 186, p. 1868.

HRUSKA K. — Rolul glucozidului în injecţia cu bacterii virulente. *C. R. Soc. Biol.* 1933, 112, p. 771 şi *Zeitschrift f. Immunitätsf*, 1934, 81, p. 367.

HUBOŢI ION — Oarecare învăţături pentru căutarea bolilor şi prăsirea vitelor domestice, întocmite şi întiia oară date la lumină în limba romînească, pentru folosul de obşte, Bucureşti, *tipografia Sf. Sava,* 1842.

IONESCU AL. P. — Un caz de cărbune la cîine. *Arhiva veterinară,* 1922, 16, p. 168.

IONESCU-MIHAEŞTI C. şi POPESCU C. — Epidemia de cărbune intestinal de la Mamaia din 1934. *Revista sanitară militară,* 1936, 35, p. 587.

IONESCU-MIHAEŞTI C. şi col. — Asupra structurii antigenice la B. anthracis. *C. R Soc. Biol.*, 1937, 125, p. 765.

IRIMINOIU GH. şi MEZEI N. — O enzootie de antrax la porci. *Revista de medicină veterinară şi zootehnie,* 1937, 49, nr. 11—12 p. 477.

ISOPESCU I. — Vaccinarea anticărbunoasă în condiţii experimentale şi de teren cu tulpini edematogene-acapsulogene. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală* 1949, 1, p. 34.

ISOPESCU I. şi CORMUŞ D. — Infecţia şi imunizarea pe cale intracerebrală cu tulpini necapsulogene de B. anthracis. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 39.

ISOPESCU I., GRASOIU G., STANCA M. şi CORMUŞ D. — Incercări de titrare a serului anticărbunos pe şoarece prin folosirea tulpinilor edematogene-necapsulogene de B. anthracis. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 53.

ISOPESCU I., STANCA M. şi GRASOIU G. — Influenţa bacilului mezenteric asupra valorii imunizante a vaccinului anticărbunos. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 74.

IVANOVICS G., BRUCKNER V. — Studii chimice şi imunologice asupra mecanismului infecţiei şi imunităţii anticărbunoase. *Zeitschr. für Immunitätsf.*, 1937, 90, p. 304 şi 91, p. 175, 1938, 93, p. 119.

IVANOVICS G. — Studii asupra imunitătii anticărbunoase. *Z. f. Immunitätsf.*. 1938, 94, p. 436.

IVANOVICS G. — Inrudirea imunobiologică dintre polizaharidul cărbunos, substanţa capsulară a pneumococului tip 14 şi substanţa specifică a hematiilor de la oamenii din grupa A. *Z. f. Immunitätsf.*, 1940, 98, p. 373.

JACOTOT H. şi VIRAT B. — Longevitatea sporilor de B. anthracis (primul vaccin a lui Pasteur), *Ann. Inst. Pasteur,* 1954, 87, p. 215.

KAVEEH M. şi ENTESAAR F. — Două cazuri de infecţie accidentală la om cu o tulpină atenuată de B. anthracis. *Arch. Inst. Hessarek,* Iran, 1947, 5, p. 73

KITASATO — Cercetări asupra sporogenezei bacilului cărbunos în sol. la diferite adîncimi. *Zeitsche. f. Hygiene,* 1890, 8, p. 190.

KOCH R. — Etiologia antraxului. *Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen.* 1876, II, p. 277.

KOLESOV S. G. — Obţinerea serului anticărbunos pe cai şi berbeci hiperimunizaţi cu culturi omorîte (Bact. anthracis). *Sbornic rabot molodah ucenîh v oblasti veterinarii, Izd. Vashil,* 1940.

KOLESOV S. G. şi col. — Despre vaccinarea anticărbunoasă cu vaccinul S.T.I..*Veterinaria,* 1948, nr. 7, p. 19, 1951, nr. 5, p. 32.

KOLESOV S. G. — Problema vaccinoprofilaxiei antraxului la animale în alte ţări. *Veterinaria,* 1957, nr. 1, p. 86.

KOSAREV A. V. — Influenţa porumbului şi a cepei asupra bacililor cărbunoşi din sol. *Veterinaria,* 1956, nr. 9.

KRANEVELD C. şi DJAEMOEDIN R. — Proba transmiterii antraxului prin Tabanus rubidus, Wied. *Veeartsenijk. Meded. Buitenzorg,* 1940, 83, p. 42.

KRISTENSEN M. — *Zbl. f. Bakt. O.,* 1927, 101, p. 220.

KRAUS şi col. — Asupra eficacităţii serului normal de bou în antraxul uman. *W. kl. Wochenschr.*, 1917.

KRAUS şi BELTRAMI — Probe experimentale privind eficacitatea serului normal de bou faţă de infecţia cărbunoasă. *Z. f. Immunitätsf.*, 1921, 31.

KRIUCIKOV I. I. — Animalele sălbatice, izvor de răspîndire a antraxului. *Veterinaria*, 1953, nr. 6, p. 36.

KUDRIAVŢEV şi ROMANOV — Asupra problemei serodiagnosticului în antrax. *Z. f. Infektionskunde*, 1928, 32, p. 57.

KUJUMGIEV I. — Prontozilul ca mijloc de diferenţiere a saprofiţilor pseudocărbunoşi de Bacillus anthracis. *Giornale di Batteriologia e Immunologia* 1938, 20, p. 1010.

KUJUMGIEV I. şi NEFTIANOVA — Fenomene de disociere la vaccinul anticărbunos *Zbl.. f. Bakt. O.*, 1940, 146, p. 265.

KUJUMGIEV I. — Contribuţii la obţinerea serului precipitant anticărbunos pe cai *Zeitschr. für Immunitätsf.*, 1940, 97, p. 436.

KUJUMGIEV I. — Asupra producţiei serului imun anticărbunos cu ajutorul agresinelor şi titrarea acestor seruri. *Giornale di batteriologia i immunolog.*, 1940, 27, nr. 4.

KUJUMGIEV I. — Obţinerea variantelor acapsulogene şi avirulente de B. anthracis prin oprirea aeraţiei culturilor. *Iz. Mikrobiol. Institut.*, Sofia, 1955, 5, 6, p. 51.

LEHMANN — *Münch. med. Wschr.*, 1887, nr. 26.

MALEAVIN A. G. — Prepararea serului anticărbunos prin metoda de hiperimunizare a bovideelor cu culturi inactivate de Bac. anthracis. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnîh preparatov*, 1952, 3, p. 151.

MARCHOUX E. — Serul anticărbunos, *Ann. Inst. Pasteur*, 1895, 9, p. 785.

MAZZUCCHI M. — Rezultatele mai noi şi metoda de vaccinare anticărbunoasă cu doze mari de germeni şi spori virulenţi. *La Clinica Veter.*, 1929, 52, p. 201 şi 1929, 52 p. 662.

MAZZUCCHI M. — Vaccinarea anticărbunoasă cu vaccinul carbozzo în primăvara anului 1930. *La Clinica Veter.*, 1930, 53, p. 615.

McCLOY E. W. — Studii asupra unei tulpini lisogenice de bacili. Un bacteriofag specific pentru B. anthracis. *J. Hyg. Camb.*, 1951, 49, p. 114.

MECINIKOV I. — Asupra atenuării bacteriilor cărbunoase în sîngele oilor refractare. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, 1, p. 42.

MESROBEANU I. şi SLĂVESCU V. — Acţiunea gălbenuşului de ou asupra virulenţei bacteridiei cărbunoase, *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1942, 12, p. 279.

MIHIN N. A. şi BELIKOV V. P. — Obţinerea serului anticărbunos pe bovidee şi cabaline prin inoculare cu culturi omorîte de Bac. anthracis. *Vet. obozrenie*. 1918, nr. 1.

MINK R. şi MINK A. — Tulburările profunde, morfologice şi citologice pe care le suferă bacilul cărbunelui sub influenţa penicilinei. *C. R. Acad. Sci.*, 1949, 228, p. 279.

MIHAILESCU A. — Puterea de protecţie a serului normal de la diferite specii de animale faţă de antrax şi rujet. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1941.

MINETT C. F. şi DHANDA R. — Multiplicarea lui B. anthracis şi Cl. chauvei în sol şi apă. *Indian J. Vet. Sci.*, 1941, 11, p. 308, *Ref. Bull. Inst. Pasteur,* 1947, 45, p. 230.

MITZMAIN J. L. — Transmiterea antraxului prin insecte. *J. trop. Med. Hyg.*, Londra, 1914, 17, p. 61.

MITZMAIN J. L. — Sumarul experienţelor privind transmiterea antraxului prin insecte sugătoare. *U. S. Pub. Health. Service Hyg. Lab.*, 1914, *Bull.* nr. 94, p. 41.

MOLNAR I. — Capacitatea reductoare a speciilor B. anthracis şi B. mesentericus. *Acta Vet. Hung.*, 1949, 1, p. 86.

MORRIS H. — Insectele hematofage transmiţătoare a antraxului. *Luisiana Stats Univ. Agric. Exp. Stations. Baton rouge,* Bull. 163, March, 1918.

MOTAŞ C. şi RIEGLER — Un caz de cărbune bactiridien apiretic. *Bul. Soc. Med. Vet.*, 1902—1903, p. 14.

NAPLAS — Acţiunea bacteridiei cărbunoase asupra hidraţilor de carbon. *Ann. Inst. Pasteur,* 1900, 14, p. 232.

NIKIFOROVA N. M. — Influenţa factorilor fizici asupra activităţii precipitante a serului anticărbunos. *Trudî gosudarstvenogo naucino controlinogo instituta veterinarnîh preparatov,* 1952, 3, p. 295.

NIESCHULTZ O. — Transmiterea antraxului prin tabanide muscide şi mustici. *Veeartsennikundige Mededeeling. Buitenzorg Java,* 1928, 63, p. 59.

NIESCHULTZ O. — Asupra transmiterii mecanice a unor infecţii prin insecte sugătoare. *Tigdschr. Diergeneesk,* 1939, 66, p. 603.

NUNGESTER W. J. — Disociaţia la B. anthracis. *J. inf. Dis.*, 1929, 44, p. 73.

OLSUFIEV N. G. şi LELEP P. P. — Rolul tăunilor în transmiterea antraxului. *Sbornic Parasitologhii V.I.E.M.* (Jubileul prof. Pavlovski) 1935, p. 1, 45.

PANAITESCU GH., PAULIAN E. şi MUNTEANU V. — Septicemie cărbunoasă (la om). *Revista ştiinţelor medicale,* 1946, 36, p. 817.

PASCU L. — Contribuţiuni cu privire la valoarea antigenetică a sporilor în vaccinaţiunea anticărbunoasă. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1938.

PASTEUR L. şi JOUBERT J. — Notă asupra cărbunelui şi septicemiei. *C. R. Acad. Sci.*, 1877, 85, p. 101 şi în *Oeuvres de Pasteur,* 1933, vol. VI. p. 172—188, sub redacţia lui Pasteur Valery-Radot.

PASTEUR şi JOUBERT J. — Studiul maladiei cărbunoase. *C. R. Ac. Sci.*, 1877, 84, p. 900 şi *„Oeuvres de Pasteur"*, 1933, vol. VI, p. 164.

PERDRIX L. — Asupra transformării materiilor azotate în culturile bacteridiei cărbunoase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, 2, p. 354.

PERSONEUS G. şi col. — Studii asupra unui vaccin anticărbunos preparat din o variantă necapsulogenă de Bacilllus anthracis. *Am. J. Vet. Res.*, 1956, 17 p. 153.

PETERMAN N. — Cercetări asupra imunităţii contra cărbunelui cu ajutorul albumozelor extrase din culturi. *Ann. Inst. Pasteur,* 1892, 6, p. 32.

POCHON J. — Cercetări asupra floculării serurilor anticărbunoase. *Revue d'immunologie,* 1938, vol. 4, p. 457.

POLLENDER — Cercetări microscopice şi microchimice asupra sîngelui cărbunos. *Vierteljahr fr. gericht, und offent. Medic.*, 1855, p. 102.

POPESCU F. şi ARVENTIEVA I. — Un caz de hiperpirexie la porc într-o infecţie probabil mixtă (cărbune bacteridien şi rujet). *Arhiva veterinară,* 1931, 23, p. 157.

POPESCU I. P. — Seroreacția Abderhalden în cărbunele bacteridien, morvă și turbare. *Arhiva veterinară,* 1915, 12, p. 165 și 209.

POPOVICI I. — Incercări de vaccinare contra cărbunelui prin lichidul din edeme cărbunoase. *Arhiva veterinară,* 1929, 21, p. 164.

POPOVICI I. — Cercetări asupra infecțiunii, pe cale intraperitoneală, la cobai, cu vaccin Pasteur nr. 2; încercări de imunizare. *Arhiva veterinară,* 1934, 26, p. 88.

POPOVICI I. și WEGENER M. — Titrarea serului anticărbunos pe șoareci cu ajutorul culturilor acapsulogene de B. anthracis. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1950, 2, p. 46.

POPOVICI A. — Numărul germenilor vii conținuți de organele animalelor moarte sau sacrificate din cauza infecției cărbunoase. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1950, 2, p. 33.

PREISZ H. — Studii asupra morfologiei și biologiei bacilului cărbunos. *Zbl. f. Bakt.,* 1904, 35.

PROTOPOPESCU P. — Situația antraxului în Romînia în anii 1932—1933. *Revista de medicină veterinară și zootehnie,* 1934, nr. 11—12, p. 600.

PUZISS M. și WRIGHT G. G. — Studii asupra imunității în antrax. IV Factorii care influențează elaborarea antigenului protector la B. anthracis în medii chimic definite. *J. Bact.,* 1954, 68, p. 474.

RĂDULESCU ELENA — Incercări de imunizare în cărbune la cobai, iepuri și oi, cu o sușă acapsulogenă, dar edematogenă de Bacillus anthracis. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* București, 1938.

RAMON G. și STAUB A. — Cercetări asupra imunizării contra cărbunelui. O nouă formulă de vaccinare anticărbunoasă. *Congresul internațional de microbiologie,* Londra, 1936, *C. R. Acad. Sci.,* 1936, 203, p. 1323, *Rev. d'Immunologie,* 1936, 4, p. 401. *Bull. Acad. Vét. France,* 1936, 9, p. 375.

RAYER în colaborare cu DAVAINE — Inocularea cărbunelui. *C. R. Soc. Biol.,* 1850, (1851) II .p. 141—144.

RENAUX E. — Cultura speciei B. anthracis în mediu calcic și în mediu oxalatat. *Ann. Inst. Pasteur,* 1952, 83, p. 38.

RICHOU R. și col. — Cercetări asupra diastazelor microbiene. Prezența unei diastaze gelatinolitice în filtratele culturilor de B anthracis. *C. R. Soc. Biol.,* 1954, 148, p. 1093.

RIEGLER P. — Un caz de antrax cu fenomene de colici în timpul vieții. *Bull. și Mem. Soc. Med. Vet.,* 1892, 93, p. 243.

RIEGLER P. — Vaccinațiunea anticărbunoasă cu serul lui Sobernheim. *Arhiva veterinară,* 1905, 2, p. 3.

ROUX E. — Despre acțiunea căldurii și aerului asupra sporilor bacteridiei cărbunoase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 392.

ROUX E. și CHAMBERLAND CH. — Vaccinarea iepurilor contra cărbunelui. *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 513.

ROUX E. și CHAMBERLAND CH. — Asupra imunității contra cărbunelui conferită prin substanțe solubile. *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, 2, p. 405.

ROUX E. — Bacteridia cărbunoasă asporogenă. *Ann. Inst. Pasteur,* 1890, 4, p. 25.

RUSU D. — Diagnosticul infecției cărbunoase din piei brute prin seroreacție și metoda bacteriologică. *Arch. Roum. de Path. Exper.,* 1932, 5, p. 505.

SABRAZES și COLOMBOT — Acțiunea bacteridiei cărbunoase asupra unui pește marin, hipocampul. *Ann. Inst. Pasteur,* 1894, 8, p. 696.

SALEI P. I. — *Veterinaria*, 1949, nr. 8, p. 20.

SANARELLI G. — Distrugerea virusului cărbunos sub pielea animalelor sensibile. *Ann. Inst. Pasteur*, 1893, 7, p. 820.

SANARELLI G. — Asupra patogeniei cărbunelui zis intern sau spontan. *Ann Inst. Pasteur*, 1925, 39, p. 209.

SANARELLI G. şi ALEXANDRINI A. — Atenuarea gradată, permanentă şi ereditară a bacteridiei cărbunoase prin limfa peritoneală a iepurelui. *Ann. Inst. Pasteur*, 1933, 51, p. 40.

SATKO P., PLOTIKOV C. şi VOROŞILOV C. — Unele observaţii asupra vaccinului S.T.I. *Veterinaria*, 1951, 5, p. 34.

SCHAEFER W. — Morfologia bacteriei cărbunoase. Disociaţia bacteridiei cărbunoase. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, p. 897 şi 1178.

SERAFINI — *Ref. Baumgarteas Jahresber.*, 1888, 102. Citat de Gotschlich în H. path. Mikroorganismen ed . II 1913 şi III, 1929.

SCLAVO — Asupra preparării serurilor contra antraxului. *Zbl. f. Bakt.*, 1895, 18, p. 744.

SEU K. S. şi MINETT C. F. — Experienţe privind transmiterea antraxului prin muşte *Indian J. Vet. Sci.*, 1944, 14, p. 149.

SLATINEANU A., BĂLTEANU I. şi FRANCKE M. — Două cazuri de meningoencefalită cărbunoasă. *Mişcarea medicală Romînă*, 1939, nr. 1—2.

SMIRNOV G. L. şi ROMANOV D. S. — Obţinerea serului anticărbunos prin hiperimunizarea animalelor cu culturi omorîte prin substanţe colorante cu bază de anilină. *Sovetskaia veterinaria*, 1934, nr. 6.

SMITH H. şi KEPPIE J. — Observaţii asupra antraxului experimental: existenţa unui factor letal specific produs de B. anthracis in vivo. *Nature* (Londra), 1954, 173, p. 869.

SOBERNHEIM — Antraxul. Monografie în H. der Path. Microorg., 1931, vol. III, p. 1041.

SOITUZ V. — Serovaccinarea anticărbunoasă intradermică la cal. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1925.

SOYKA — Umiditatea solului şi bacilul cărbunelui. *Fortschritte der Med.*, 1886, p. 281.

SORU E. şi col. — Studiu chimic şi enzimatic al variantelor bacilului anthracis obţinut sub acţiunea unor factori chimici. *Studii şi cercetări de Inframicrobiologie*. 1952, 3, p. 149.

STAMATESCU S. şi STURZA N. — Variante R şi S la B. anthracis şi relaţiile lor cu virulenţa germenului. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, 133, p. 510.

STAMATIN L. — Un caz de glos-antrax la cîine asociat cu infecţia streptococică. *Arhiva veterinară*, 1936, 28, p. 20.

STAMATIN N. — Condiţiunile de formare şi destrucţiune a capsulei la Bacillus anthracis. *Arhiva veterinară*, 1931, 23, p. 229.

STAMATIN N. — Contribuţii la studiul morfologiei şi biologiei bacteridiei cărbunoase. *Arhiva veterinară*, 1934, 26, p. 1.

STAMATIN N. şi HARISIAD A. TACU — Valoarea antigenică a tulpinilor de B. anthracis edematogene acapsulate şi mucogene capsulate. *Arch. Roum. de Path. Expér. et de Microbiologie*, 1943, 13, p. 207.

STAMATIN N. şi STAMATIN L. — Puterea imunizantă a tulpinilor acapsulogene de Bacillus anthracis. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, p. 491.

STAMATIN N. şi STAMATIN L. — Edemul format la iepure în urma inoculării variantelor acapsulogene conferă imunitate şoarecilor. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, p. 494

STAMATIN N. — Imunizarea anticărbunoasă obţinută cu o tulpină acapsulogenă de Bacillus anthracis la ovine, *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 125, p. 20.

STAMATIN N. — Imunizarea animalelor de laborator şi a ovinelor contra cărbunelui prin vaccinare cu o tulpină acapsulogenă, dar edematogenă de Bacillus anthracis. *Ann. Inst. Pasteur,* 1938, 61, p. 394.

STAMATIN N. şi SCHAEFER W. — Puterea floculantă şi protectoare a serului anticărbunos preparat pe iepure. *Ann. Inst Pasteur,* 1938, 61, p. 772.

STAMATIN N. — Desfacerea funcţiunii imunizante de funcţiunile patogene la bacteridia cărbunoasă. *Arhiva veterinară,* 1939, 31, nr. 4—5.

STAMATIN N. şi SCHAEFER W. — Studiul serului anticărbunos. *Arhiva veterinară,* 1944, 36, p. 3.

STAMATIN N., LUNGU I., ISOPESCU I., POPA O. şi DRAGHICI D. — Ce se întîmplă cu bacilii cărbunoşi (B. anthracis) răspîndiţi pe sol o dată cu sîngele animalelor infectate (comunicarea I). *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, vol. 2, p. 26.

STAMATIN N., ISOPESCU I., POPA O. — Ce se întîmplă cu bacilii cărbunoşi (B. anthracis) răspîndiţi pe sol o dată cu sîngele animalelor infectate comunicarea a II-a). *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1951—1952, 3, p. 87.

STAMATIN N., UNGUREANU C., IONICĂ C. şi GOGOAŞĂ V. — Prepararea serului anticărbunos pe cal cu tulpini avirulente: edematogene şi acapsulogene. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1953, IV, p. 152.

STAMATIN N., POPA O., BICA-POPII V. — Ce se întîmplă cu sporii cărbunoşi din solurile infectate şi supuse unor condiţii variate de mediu. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1953, 4, p. 155.

STAUB A. şi col. — Ser precipitant anticărbunos obţinut prin inocularea culturilor acapsulate. *Bull. Acad. Vét. France,* 1947, 20, p. 428.

STAUB M. A., VIRAT B. şi LEVADITI J. — Puterea letală a unor tulpini acapsulogene de B. anthracis. *Ann. Inst. Pasteur,* 1955, 88, p. 244.

STAUB A. şi VIRAT B. — O nouă formulă a vaccinului anticărbunos. *C. R. Acad. Sci.,* 1954, 238, p. 748.

STEFANOVA P. E. — Vaccinarea cu cultură omorîtă de Bacillus anthracis. *Veterinaria,* 1947, 4.

STEFANOVA P. E. — Despre esenţa imunităţii în antrax. *Veterinaria,* 1951, 5, p. 36.

STEIN D. C. — Observaţii privind rezistenţa B. anthracis. *Vet. Med.* 1947, 42, p. 13.

STEIN D. C. şi ROGERS H. — Obţinerea sporilor viabili de antrax din vaporii suspensiilor de spori încălzite şi din distilatul suspensiilor de spori cărbunoşi. *Am. J. Vet. Res.,* 1946, 7, p. 481.

STERNE M. — Variaţia la Bacillus anthracis. *Onderstepoort J. Vet. Science and Animal Industry,* 1937, 8, p. 271.

STERNE M. — Efectul diferitelor concentraţii de bioxid de carbon asupra creşterii tulpinilor virulente de antrax. *Onderstepoort J. Vet. Science and Animal Industry,* 1937, 9, p. 49.

STERNE M. — Variaţii de formă ale coloniilor de bacili cărbunoşi. *Onderstepoort J. Vet. Science and. Animal. Industry,* 1938, 10, p. 245.

STERNE M. — Efectul inflamației asupra dezvoltării imunității la cobai. *Onderstepoort J. Vet. Science and: Animal Industry,* 1948, 23, p. 165.

STOICESCU G. — Acțiunea agenților fizici asupra evoluției antraxului. *Arhiva veterinară.* 1923, 17, p. 20.

STRANGE R. E. si BELTON F. C. — Studii asupra antigenului protector produs in vitro de B. anthracis, purificarea și chimia antigenului. *Brit. J. exp. Path.,* 1954,, 35, p. 153.

STRAUS I. — Cărbunele la animale și om. Paris. 1887.

SURMONT H. și ARNOULD E. — Cercetări asupra producerii bacilului, cărbunelui asporogen. *Ann. Inst Pasteur,* 1894, 8, p. 817.

TAKAHASHY J. — Disocierea bacteridiei cărbunoase plecînd de la un singur germen *C. R. Soc. Biol.,* 1938, 127, p. 399.

TAKAHASHY J. — Tulpini nesporogene ale bacteridiei cărbunoase obținute din germeni unici. *C. R. Soc. Biol.,* 1938, 127, p. 960.

TAKAHASHY J. — Studiu asupra variabilității la B. anthracis plecînd de la germeni izolați cu micromanipulatorul. *Ann. Inst Pasteur,* 1939, 62, p. 407.

TECLU M. — Cărbunele bacteridien la pisică. *Arhiva veterinară,* 1927—1928, 20, p. 129.

TERENTIEV F. și STEFANOVA E. — Natura imunității în antrax și importanța reacțiunii postvaccinale în geneza imunității anticărbunoase. *Veterinaria,* 1946, 10—11, p. 6.

TERENTIEV F. — Vaccinarea anticărbunoasă numai cu vaccinul II al lui Țenkovski *Veterinaria,* 1952, 9, p. 21.

TIBERTI — Acțiunea imunizantă a unei nucleoproteine extrase din bacilul cărbunelui *Zbl. f. Bakt. O.,* 1904, 36.

TOMCSIK J. și col. — Studiul antigenilor bacteridiei cărbunoase. *Zeitschr. für Imunitätsf.,* 1932, 76, p. 214, 1933, 77, p. 86, 1934, 83, p. 426, 1935, 84, p. 308, 1938, p. 28.

TOUMANOFF C. și VAGO C. — Efectul alcalinității mediului de cultură asupra virulenței B. cereus var. alesti, Toum. și Vago pentru viermii de mătase. *C. R. Acad. Sci.,* 1952, 235, p. 1715.

TOUMANOFF C. și VAGO C. — Cercetări asupra efectului toxic al B. cereus var. alesti față de viermii de mătase. *Ann. Inst. Pasteur,* 1953, 84, p. 623.

TRIETEȚKAIA T. A. — Dezinfecția solului infectat cu bacili cărbunoși. *Veterinaria,* 1949, 7, p. 44.

TSILINSKI — Cercetări asupra virulenței bacteridiei. *Ann. Inst. Pasteur,* 1892, 5, p. 455.

VARACHIU N. — Cercetări citologice asupra bacilului antraxului sub influența penicilinei in vitro. *Revista sanitară militară,* 1948, 51, p. 505.

VAVAKO D. — Cercetări experimentale asupra titrării serului anticărbunos. *Rev. D'Immunologie,* 1947, 11, p. 168.

WENDROTH — Despre cauzele, diagnosticul și tratamentul cărbunelui contagios. Sangerhausen, 1836.

WOLLMAN E. și BARDACH M. — Influența fracționării dozei asupra toleranței cobaiului față de infecția cărbunoasă. *C. R. Soc. Biol.,* 1936, 121, p. 1278.

WRIGHT G. G. și col. — Studii asupra imunității în antrax III. Elaborarea antigenului protector în medii neproteice, chimic definite. *J. Immunol.,* 1954, 72, p. 263.

Bacillus larvae White, 1904

Sinonime: *Bacterium X* Moore et White, 1904, *Bacillus brandenburgensis* Maassen, 1906. *Bacillus burri* Cowan, 1911

Morfologie. Bacilul se prezintă fie ca un bastonaş lung de 2—5 microni şi lat de 0,5—0,8 microni, fie sub formă de filamente. Bastonaşele rezultate din diviziune pot rămîne parţial lipite, constituind lanţuri uneori foarte lungi. Capetele bacilului sînt uşor rotunjite.

Germenul sporulează. Sporul poate fi situat central sau subterminal. Forma sa este ovală şi dimensiunile sale sînt de 1 micron lungime şi 0,6 microni lăţime. Bacilii din culturi sau din larve se transformă, cu energie şi, practic, în totalitatea lor, în spori, ceea ce face ca în frotiurile din larve sau din culturi să nu întîlnim, uneori, decît spori, formele vegetative fiind absente.

Bacilul este mobil, fiind prevăzut cu numeroşi cili dispuşi de jur împrejurul celulei. Cilii, în momentul cînd începe transformarea formei vegetative în spori, se dezlipesc de celulă şi îi găsim în frotiurile special colorate, sub formă de smocuri sau cili izolaţi răspîndiţi pe frotiu.

Este Gram pozitiv.

Bacilul şi sporii pot fi puşi în evidenţă prin metode simple de coloraţie, folosind albastrul de metilen, fucsina diluată etc. Prin aceste metode, sporii se prezintă ca nişte vacuole ovale, necolorate şi mărginite de o membrană net delimitată şi bine colorată. Sporul se poate colora în totalitatea sa prin metodele obişnuit folosite în acest scop.

Medii de cultură. *Bac. larvae* nu se cultivă pe medii obişnuite de cultură. Bulionul şi agarul nu-i permit multiplicarea. Chiar mediile speciale recomandate de diferiţi cercetători nu dau totdeauna rezultate pozitive.

White cultivă germenul într-un agar nutritiv obişnuit, în care însă bulionul este înlocuit printr-un extract de larve de albine, care se prepară astfel:

Larvele se triturează, se amestecă cu un volum egal de apă de robinet, se macerează cîteva ore la rece şi apoi se fierb sau se autoclavează, se filtrează, se adaugă peptonă 10‰ şi fibre de agar 18‰. Se topeşte agarul prin încălzire la 100°C, se filtrează din nou la cald prin hîrtie de filtru, se repartizează în tuburi şi se sterilizează la 115°C timp de 20 de minute.

White cultivă germenul şi într-un extras de larve sterilizat prin filtrare. Pentru a prepara extrasul, larvele sînt triturate şi amestecate cu apă, se adaugă puţin cloroform şi se lasă totul la 37°C timp de o noapte. Amestecul se trece printr-un filtru sterilizant — Chamberland sau Seitz — şi filtratul poate fi folosit la cultivarea germenului. Cu ajutorul lui se poate prepara şi un agar, care la fel permite cultivarea germenului.

Tot în scopul cultivării bacilului s-a preparat, în felul următor, un mediu cu ou. Gălbenuşul unui ou recoltat în condiţii de perfectă asepsie se amestecă în proporţie de 1/5 cu agar nutritiv preparat cu bulion de carne. Gălbenuşul se adaugă agarului lichefiat şi răcit la temperatura de 50°C. Mediul, după adăugarea gălbenuşului de ou, se solidifică în poziţie înclinată. El oferă condiţii optime bacilului şi convine atît conservării, cît şi izolării lui din larve infectate.

Toumanoff cultivă germenul pe un mediu care are următoarea compoziție:

peptonă	40 g
gelatină	30 g
glucoză	5 g
apă	1 000 g

Substanțele se adaugă în apă, amestecul se încălzește pînă la dizolvarea tuturor componenților, se răcește și se adaugă un albuș de ou pentru clarificare. Se filtrează și se sterilizează la autoclav 15 minute la 120°C. Mediul permite obținerea unor culturi satisfăcătoare. El devine încă și mai propice cultivării dacă i se adaugă un gălbenuș de ou.

Bulionul simplu ar putea permite după unele observații, cultivarea bacilului dacă i se adaugă lichide — ser sanguin — sau organe — ficat — de origine animală.

Caractere de cultură. *Bac. larvae* dă, chiar pe mediile considerate prielnice dezvoltării sale, o cultură puțin abundentă. Ea apare după 1—6 zile la 37°C. În mediul lichid, Toumanoff observă, după însămînțare, formarea unui depozit, iar la suprafață constituirea unui inel marginal și a unei pelicule care se dezagregă ușor prin agitarea tubului. Pe agarul cu ou, mediul socotit cel mai convenabil, coloniile izolate au centrul clar, iar marginile de o culoare mai închisă (Toumanoff). Însămînțările abundente dau un strat fin de cultură, de culoare albicioasă; cultura devine vîscoasă după transformarea formelor vegetative în spori.

Fiziologie. Germenul este aerob și se dezvoltă în condiții normale de aerație. pH-ul optim = 6,8 care corespunde concentrației de ioni de hidrogen din intestinul larvei.

Fermentează, cu o ușoară producție de acid — coboară pH-ul de la 7,2 la 6,8 — 6,6 — unele substanțe hidrocarbonate. După Toumanoff, bacilul fermentează intens glucoza, mai puțin intens levuloza și este inactiv față de maltoză, galactoză, manită, zaharoză și lactoză. Activitatea fermentativă este determinată pe un mediu compus din gălbenuș de ou, zahărul de cercetat și tinctură de turnesol ca indicator. Zahărul se adaugă în proporție de 1—2%. Concentrațiile mai mari de 3% sînt inhibitoare. Toumanoff afirmă însă că după cîteva treceri pe medii artificiale bacilul se dezvoltă chiar la o concentrație de 12%.

Nu produce indol.

În culturi se pot descoperi urme de amoniac și hidrogen sulfurat.

Reduce nitrații în nitriți. Aceștia din urmă sînt însă repede consumați de bacil. Adăugarea lor în cultură ar putea înlesni cultivarea bacilului.

Este un proteolitic activ.

Rezistența sporilor față de diverși factori fizici și chimici este foarte mare. Suspensiile de spori în apă sînt omorîte numai printr-o încălzire de 11 minute la 100°C. Rezistența la căldură este în legătură și cu vechimea sporilor și anume sporii de mult timp formați sînt mai rezistenți ca cei proaspeți. Sporii înglobați în substanțe protectoare rezistă mai mult ca cei puși în suspensie în apă fiziologică. În miere, de exemplu ei nu sînt uciși decît după o încălzire de 20—40 de minute la 105—107°C. Temperaturile inferioare celei de fierbere a apei nu omoară sporii decît după un timp foarte lung. Astfel, la 95°C sporii rezistă 15 minute şi încep să moară după 20, 40 şi 60 de minute; la 93°C distrugerea sporilor nu se face decît după 1—1½ ore şi unii spori rezistă chiar 3 ore la această temperatură.

Căldura uscată nu distruge sporii nici în 8 ore la 100°C.

Sporii din fagurii infectaţi se distrug numai prin acţiunea unor temperaturi ridicate, şi anume printr-o încălzire de 20—30 de minute la autoclav, la temperatura de 120°C.

Sporii bacilului larvei sînt rezistenţi faţă de antiseptice. Acidul fenic, chiar în concentraţii de 5%, nu-i omoară nici în cîteva luni. Sublimatul în concentraţie de 1/500 sau 1/1 000 îi distruge în 24 de ore. Formolul, care este aşa de activ faţă de bacteriile patogene pentru om şi animale, nu omoară sporii germenului decît în concentraţii mari, 5—10% şi mai bine — 20% — şi numai după cîteva ore — 6 ore sau mai mult — de contact. Alcoolul de 95° nu omoară sporii de cultură decît după 45 de ore de contact, iar cei din larve sînt încă cultivabili şi infecţioşi după 45 de zile de contact. Amestecul de formol şi alcool s-a arătat, în practică, cel mai bun produs pentru dezinfectarea fagurilor şi instrumentarului infectat cu agentul locii americane.

Sporii rezistă în larvele moarte pînă la 40 de ani. Stupii şi fagurii abandonaţi de ani de zile pot conţine încă microbul bolii şi pot fi originea unei infecţii. O acţiune sterilizantă importantă o au razele solare cînd vin direct în contact cu sporul; în lunile august-septembrie, ele omoară sporii din materialul infecţios în 28—41 de ore, iar pe cei care se găsesc incluşi în miere în 4—6 săptămîni.

Infecţia produsă de *Bac. larvae* la larvele de albine se numeşte loca americană. Boala este răspîndită în toate ţările în care se cresc şi se exploatează albine. Se găseşte, astfel, în America, Asia Mică şi în toate ţările europene. In Romînia ea a fost diagnosticată în 1925 de Begnescu şi Cernăianu.

Infecţia larvelor cu spori se face pe cale bucală şi, de regulă, începînd cu ziua a doua a stadiului larvar, cînd acestea încep a fi hrănite de albine, care le transmit o dată cu hrana şi sporii infecţiei. Infecţia în stup şi de aici la albinele hrănitoare poate fi adusă prin diferite căi. Mătcile cumpărate la întîmplare, stupii vechi, ceara din care se confecţionează ramele, mierea folosită la hrana albinelor, uneltele care se folosesc în prisacă etc. pot fi vectori ai sporilor şi pot introduce boala într-un stup. Unii paraziţi ai stupilor ca *Dermestes lardarius* (un cărăbuş), *Drosophila funebris, Galleria melonella* (fluturele de ceară) pot fi purtători ai acestor spori şi îi pot introduce în stupi.

Cercetările experimentale au arătat că excrementele cărăbuşului *Dermestes lardarius*, ca şi conţinutul intestinal de la *Drosophila funebris* pot conţine spori de *Bac. larvae*. Boala s-a putut transmite administrînd larvelor de albine excremente provenind de la *Galleria melonella*.

Albinele care au venit în contact cu materialul infecţios îl transmit larvelor o dată cu hrana. Materialul infecţios, este constituit, de regulă, din spori. Aceştia, ajunşi în intestinul larvei, germinează, formele vegetative rezultate încep să se multiplice şi semnele infecţiei nu întîrzie să apară.

Sensibilitatea puietului faţă de *Bac. larvae* este însemnată şi nu pare a fi condiţionată de factori ajutători. Boala evoluează, sub aceeaşi formă şi cu acelaşi caracter de gravitate, în coloniile viguroase, ca şi în cele debilitate. Infecţia nu este condiţionată de anotimp. În condiţii experimentale poate fi reprodusă în orice sezon; spontan ea este mai frecventă în lunile iunie-iulie, dar pote fi întîlnită şi în alte luni.

Bacillus larvae, care este aşa de patogen pentru larve sau nimfe, este total lipsit de nocivitate pentru albinele adulte, insecta perfectă. Aceasta transmite infecţia, dar ea însăşi nu se îmbolnăveşte.

Simptome. Infecţia cu *Bac. larvae* într-un stup se manifestă prin modificări, care privesc:

1. aspectul general al fagurelui;
2. mirosul degajat de fagure;
3. aspectul larvei.

Examinînd un fagure infectat de loca americană se observă că larvele nu au forma şi culoarea normală: în loc să fie bombate şi de culoare gălbuie ele sînt plate, înfundate în celulă, încreţite şi de culoare brună-închis sau chiar neagră. Fagurele exală un miros caracteristic, care nu este de putrefacţie ca în loca europeană, ci poate fi comparat cu mirosul pe care îl degajă cleiul încins al lemnarilor.

Aspectul larvei şi poziţia sa în celulă sînt în raport cu data cînd se face examenul. La cîteva zile după moarte, larva este lipită de peretele inferior al celulei. Faţa sa ventrală, care este dirijată spre peretele superior al celulei şi care este în mod normal, convexă, la larva moartă este concavă. Extremitatea cefalică ocupă unghiul inferior al celulei. Încercînd să o extragem din celulă cu un ac sau cu un băţ de chibrit, observăm că învelişul ei extern se rupe şi din larvă se scurge un lichid vîscos care se întinde ca un filament, aderînd pe de o parte de chibrit, pe de altă parte de fundul celulei. După 1—2 luni de la moarte larva se usucă în celulă şi se prezintă, în această fază, ca o masă informă, care ocupă peretele inferior al celulei şi de care nu se poate dezlipi decît cu greutate.

Diagnostic. Examenul microscopic pune în evidenţă numai spori în larvele moarte de mult timp, spori şi bacili în cele recent moarte. Aspectul este aşa de caracteristic, încît, în mod practic, diagnosticul se sprijină numai pe el. Diagnosticul diferenţial între loca americană şi cea europeană se bazează atît pe examenul microscopic, cît şi pe alte caracteristici, ca: gravitatea locii americane şi benignitatea celei europene, mirosul de putrefacţie în loca europeană, absenţa acestui miros în cea americană, vîscozitatea larvelor în loca americană, absenţa acestui caracter la larvele moarte din cauza locii europene. În plus, loca europeană evoluează la larve tinere care se găsesc în celule negăurite, în timp ce cea americană, din contra, la larvele evoluate din celule găurite.

Diagnosticul diferenţial între cele două loci, precum şi între acestea şi alte afecţiuni mortale ale puietului — puiet răcit, puiet flămînd etc. — nu se poate face, în mod sigur, decît numai în laboratoare care posedă un personal specializat. Laboratoarele, prin examenul microscopic al larvelor moarte şi, eventual, prin culturi din aceste larve, pot pune un diagnostic precis şi, în special, pot confirma sau infirma prezenţa locii americane într-o stupărie, infecţie care prezintă cea mai mare importanţă. În combaterea locii americane, acest flagel al apiculturii din toate ţările, diagnosticul precoce este esenţial, căci aplicarea măsurilor dă rezultate cu atît mai bune, cu cît se intervine mai repede după apariţia bolii. Apicultorii vor trimite la laborator, spre examinare, material ori de cîte ori observă o mortalitate anormală la puiet.

Pentru ca laboratorul să poată face un examen complet şi să poată da, în consecinţă, un rezultat precis, i se va trimite următorul material:

1. Fragmente de fagure cu larve moarte şi avînd forma pătrată sau dreptunghiulară, cu latura de 15—20 cm.

2. Fagurii vor fi împachetaţi în aşa fel încît să nu se strivească în timpul transportului şi să împiedice astfel examinarea lor macroscopică şi microscopică.

3. Fagurii, pentru diagnosticul locii americane, trebuie să conţină larve cu o evoluţie avansată. Această boală evoluează la larve şi ea devine septicemică în momentul cînd larva se transformă în nimfă. În aceste momente, datorită modificărilor morfologice şi fiziologice—histoliza intestinului larvei şi constituirea unui nou intestin pentru nimfă — care însoţesc această metamorfoză, germenii trec din intestin în tot corpul insectei, infecţia devenind septicemică. Dintr-o larvă infectată nu poate rezulta deci nici o nimfă sănătoasă; în consecinţă, fagurii care au nimfe înseamnă că nu sînt infectaţi cu loca americană. De aici necesitatea de a trimite spre examinare faguri cu larve.

Profilaxia bolii. Tratamentul larvelor bolnave este greu de aplicat, dat fiind atît biologia acestor vieţuitoare, cît şi extrema rezistenţă a agentului infecţios.

În ultimul timp s-a încercat introducerea sulfamidelor în tratamentul locii americane. Dintre sulfamidele utilizate, sulfatiazolul pare a da cele mai bune rezultate. Medicamentul în vederea administrării sale se amestecă în proporţii terapeutice (0,5 g pentru 3 000 ml) cu hrană — sirop de zahăr sau miere — care se serveşte albinelor. Prin intermediul albinelor, hrana sulfamidată ajunge în intestinul larvelor, agentul patogen venind astfel în contact cu medicamentul. Rezultatele experimentale par a arăta că în aceste condiţii germenii sînt distruşi şi larva îşi continuă, în mod normal, evoluţia.

În tratamentul locii americane prin sulfamide trebuie să se respecte regulile generale ale sulfamidoterapiei şi anume:

1. sulfamida trebuie să fie folosită într-o concentraţie care să nu producă tulburări albinelor sau larvelor şi să asigure distrugerea agentului infecţios fără a crea rase bacteriene rezistente faţă de această substanţă;

2. tratamentul trebuie continuat pînă la dispariţia totală a infecţiei;

3. tratamentul trebuie să fie însoţit de măsuri care asigură eliminarea germenilor infecţiei din colonie.

Pînă la precizarea condiţiilor de folosire a sulfamidelor în combaterea locii americane se aplică măsurile de prevenire a bolii în crescătoriile indemne și de înlăturare totală a materialului infecțios și a tuturor izvoarelor de infecție în crescătoriile în care boala a apărut.

Prevenirea infecției se face aplicînd cu strictețe măsurile care împiedică aducerea bolii în prisacă.

În acest scop:

1. nu se vor introduce în stupina sănătoasă decît mătci cumpărate din crescătorii sigur indemne;
2. nu se vor hrăni albinele decît cu miere sigur sănătoasă;
3. nu se va folosi pentru stupi decît ceară sănătoasă sau sterilizată;
4. nu se vor introduce în prisacă stupi vechi, decît după sterilizarea lor;
5. nu se vor folosi unelte cumpărate decît după ce se vor steriliza.

BIBLIOGRAFIE

BEGNESCU FL. — Maladia albinelor. Loca, *Marvan,* București, 1936.

BOGDAN T. — Măsurile generale de prevenire și combatere a bolilor molipsitoare la albine. *Probleme Zootehnice și Veterinare,* 1953, 12, p. 30.

BORCHERT A. — Die Seuchenkraften Krankheiten der Honigbiene. Berlin, 1926.

PELIMON C. — Diagnosticul și profilaxia bolilor molipsitoare ale albinelor. *Revista de medicină veterinară și zootehnie,* 1946, 57, p. 156.

TOȘKOV L. A. — *Biologhia i bolesti na pcelite. Zemisdat.* Sofia 1955.

TOUMANOFF C. — Les maladies des abeilles. Paris. 1930.

Genul *Clostridium* Prazmowski, 1880

Caracterele generale ale genului

Genul *Clostridium* grupează bacilii sporulați și anaerobi; sporii pot fi situați central, subterminal sau terminal; diametrul lor transversal depășește pe cel al formei vegetative și, din această cauză, constituirea sporului modifică celula bacteriană luînd naștere forme de *Clostridium*[1] sau *Plectridium*[2]. Buchanan (1918), citat de Prévot (1938), ținînd seamă de poziția sporului în forma vegetativă, creează două genuri, și anume genul *Clostridium,* care cuprinde bacilii cu spor central sau subterminal și *Plectridium,* pe cei cu spor terminal.

Genul conține numeroase specii: unele sînt patogene, iar altele lipsite de patogenitate. Cele patogene, după funcțiunile care asigură dezvoltarea procesului morbid, au fost împărțite de Weinberg și colaboratorii în două grupe, și anume: a) specii toxigene și b) specii virulente și toxigene. Speciile din ultima grupă, spre deosebire de cele din grupa întîia, se multiplică în țesuturile vii pe care le lizează. *Clostridium welchii (Bac. perfringens), Cl. oedematis maligni* (vibrionul septic), *Cl. chauvoei* (bacilul cărbunelui emfizematos). *Cl. oedematiens* și *Cl. histolyticum* fac parte din această grupă, care poate fi numită şi grupa agenţilor gangrenei gazoase, după numele infecţiei principale pe care o produce la om şi animale. Speciile toxigene nu se multiplică, de regulă, în ţesuturile vii şi activitatea lor patogenă se datoreşte în mod exclusiv, principiilor toxici pe care îi pun în libertate. Din această grupă fac parte următorii anaerobi: *Cl. tetani* şi *Cl. botulinum*. Speciile apatogene constituie două grupe după cum produc sau nu procese de putrefacţie. *Cl. bifermentans. (Bac. putrificus tenuis), Cl. multifermentans tenalbus. Cl. putrificum Cl. sporogenes* etc. produc procese de putrefacţie, în timp ce *Cl. amylobacter, Cl. sphenoides, Cl. cochlearum, Cl. tetanomorphus* etc. nu intervin în asemenea procese.

---

[1] *Clostridium* cuvînt de origine grecească și înseamnă în formă de fus.

[2] *Plectridium* înseamnă în formă de ciocan (*plectros* = ciocan).

Zeissler privind diverse specii ale genului *Clostridium* din punct de vedere al activităţii lor fermentative asupra proteinelor şi substanţelor hidrocarbonate, le împart în cinci grupe şi anume:

1. Proteolitice şi zaharolitice: a) activitatea proteolitică dominantă: lichefiază serul coagulat şi gelatina: *Cl. botulinum, Cl. bifermentans, Cl. parasporogenes*: b) activitatea zaharolitică dominantă, lichefiază gelatina, dar nu serul coagulat: *Cl. welchii, Cl. oedematis maligni, Cl. chauvoei* şi *Cl. oedematiens*.
2. Gelatinolitice şi slab zaharolitice: *Cl. tetani*.
3. Zaharolitice, însă neproteolitice: nu lichefiază nici serul coagulat nici gelatina: *Cl. tetanomorphus, Cl. sphenoides, Cl. multifermentans tenalbus, Cl. fallax*.
4. Lipsite de proprietăţi zaharolitice şi proteolitice: *Cl. cochlearum*.
5. Numai proteolitice: *Cl. histolyticum, Cl. sporogenes*.

Toate speciile genului *Clostridium* se găsesc libere în natură şi pot fi izolate din pămînt. Zeissler şi Rassfeld au examinat, în cursul războiului din 1914—1918, din punct de vedere al prezenţei diverselor specii de anaerobi, probe de pămînt recoltate de pe diversele fronturi pe care erau răspîndite armatele puterilor centrale ale Europei. Ei au obţinut următoarele rezultate:

Cl. welchii a fost izolat din toate probele de pămînt examinate (193 de probe).

Cl. sporogenes s-a izolat din 80% (154 de probe).
Cl. amylobacter s-a izolat din 70% (136 probe).
Cl. edematiens din 45% (88 probe).
Cl. tetani din 27% (52 probe).
Cl. tetanomorphus din 20% (39 probe).
Cl. cochlearum din 13% (25 probe).
Cl. oedematis maligni din 8% (15 probe)
Cl. botulinum din 6% (12 probe)
Cl. sphenoides din 4%.
Cl. histolyticum din 2%.

Din pămînt, anaerobii se răspîndesc în natură şi-i putem izola din praful camerelor, praful din haine, de pe piele, din diverse produse alimentare şi mai ales, din materiile fecale ale animalelor şi omului.

După moarte, unii din aceşti germeni pot trece din tubul digestiv în cadavru.

Izolarea şi identificarea anaerobilor. Izolarea anaerobilor din leziunile pe care le produc se face, după Zeissler, în condiţii optime, prin însămînţări directe pe agar cu glucoză şi sînge. *Cl. chauvoei,* unul din anaerobii cei mai exigenţi, se cultivă pe un asemenea mediu chiar dacă însămînţările sînt făcute dintr-un material putrefiat; materialul de însămînţat se încălzeşte, în cazul cînd este putrefiat, timp de 30—60 de minute la 70°C. Sîngele de la bolnavi sau din cadavre se însămînţează, în vederea izolării anaerobilor, în mediul lui Zeissler. Sîngele se adaugă agarului glucozat topit şi amestecul se distribuie în plăci Petri în aceleaşi condiţii ca şi cum sîngele ar fi normal. Anaerobii se dezvoltă bineînţeles nu numai în suprafaţă, ci şi în profunzime. Pentru izolarea anaerobilor din pămînt, apă, lapte, conserve, materii fecale, este necesară o prealabilă îmbogăţire a bacteriilor anaerobe existente prin însămînţarea lor într-un mediu lichid şi bulionul cu ficat este, din acest punct de vedere, cel mai recomandabil. Însămîmţările se fac în baloane Erlenmayer, care conţin 150—200 ml de lichid, iar incubaţia se face într-un spaţiu (anaerostat) cu o presiune redusă şi deci cu puţin oxigen. Se observă că în bulionul cu ficat, astfel însămînţat, diverşii anaerobi, care eventual se găsesc în materialul folosit, nu se dezvoltă toţi deodată; multiplicarea unuia din ei inhibează pe a celorlalţi; *Cl. welchii* apare cel dintîi într-o asemenea cultură mixtă; el poate fi izolat după 6—24 de ore de la însămînţare; mediul, sub influenţa acestui germen, se acidifică şi îi împiedică cu timpul dezvoltarea. Sporularea este la fel împiedicată şi bacilii degenerează şi dispar din cultură.

Locul lui *Bac. perfringens* este ocupat apoi de *Cl. amylobacter*; acesta apare după o incubaţie de 12 ore; după 24 de ore este sporulat şi se poate izola. O dată cu *Cl. amylobacter* sau îndată după el încep să se dezvolte şi alţi anaerobi, şi anume vibrionul septic, *Bact. oedematiens, Bact. sphenoides.* Cei din urmă apar *Cl. sporogenes, Cl. histolytiticum, Cl. tetani, Cl. tetanomorphus* şi *Cl. cochlearum.* Pentru a izola diversele specii de anaerobi dintr-o cultură mixtă sînt necesare, în consecinţă, o serie de încercări. O singură încercare poate pune în evidenţă un singur anaerob, deşi cultura este mixtă. Izolarea anaerobilor din medii lichide se poate face fie prin însămînţări directe şi în serie pe agar cu sînge, fie prin încălziri fracţionate ale unor mici porţiuni de cultură, fie prin inoculări la animale. Inoculările la animale nu dau totdeauna rezultate; ele nu ne permit, în toate cazurile, să izolăm anaerobii patogeni de cei lipsiţi de patogenitate. De obicei, în sîngele din corpul animalelor inoculate cu un asemenea amestec se găseşte numai anaerobul patogen; uneori însă el poate fi asociat cu germeni apatogeni. Izolarea unui anaerob patogen dintr-un amestec de mai mulţi anaerobi patogeni nu se poate face prin inoculări decît în cazul cînd dispunem de animale activ sau pasiv imunizate faţă de diverse specii de anaerobi patogeni, astfel că animalul inoculat cu un amestec de anaerobi patogeni să nu fie sensibili decît faţă de unul din ei. Pentru a face o asemenea cercetare sînt necesare următoarele seruri: antiperfrigens, antioedematiens, antivibrion septic, antichauvoei, antihistolyticum, antitetanic, antibotulinic, A şi B. Chiar cu ajutorul acestor seruri nu se obţin totdeauna bune rezultate, deoarece unele din ele, cum este serul antiperfringens, au o slabă valoare protectoare.

Identificarea unui anaerob nu se poate face decît avîndu-l în cultură pură şi recurgînd la un complex de mijloace de cercetare. Se recomandă ca o cultură pură, în vederea identificării sale, să fie supusă următoarelor examene:

1. examen microscopic;
2. coloraţia cililor;
3. coloraţia Gram;
4. determinarea tipului de creştere pe agar cu sînge;
5. cultivarea în lapte cu porţiuni de ficat;
6. cultivarea în gelatină;
7. cultivarea în mediu cu creier;
8. proba rezistenţei sporilor;
9. proba fermentaţiei zaharurilor:
10. inoculări la animale de experienţă.

BIBLIOGRAFIE

FREI W. — Biologia generală a bacteriilor anaerobe şi patologia generală şi comparată a bolilor produse de anaerobi. *Erg. Allg. Path. Path. Anat. des Menschen u. der. Tiere,* 1936; 31, p. 1.

LIVOV V. — Diagnosticul de laborator al anaerobilor la animale domestice. *Selhozghiz.* Moscova-Leningrad, 1951.

PRÉVOT A. R. — Studii de sistematică bacteriană. *Ann. Inst. Pasteur,* 1938, 61, p. 72.

WEINBERG M. şi SÉGUIN P. — Gangrena gazoasă. Paris, 1918.

WEINBERG M., NATIVELE R. şi PRÉVOT A. R. — Microbii anaerobi. *Masson.* Paris, 1937.

ZEISSLER J. — Edemul gazos infecţios la om. Handbuch der path. Mikroorganismen in Kolle. Kraus. Uhlenhuth, 1928, 4, p. 1097.

ZEISSLER J. — Cultivarea anaerobilor, Handbuch der path Mikroorganismen, (Kolle. Kraus. Uhlenhuth) 1930, 10, p. 35.

* * * Raport asupra infecţiilor anaerobe ale plăgilor şi problemele bacteriologice şi serologice. Monografia nr. 39 publicate de *Medical Research Councili S.U.A.*

Clostridium tetani (Flügge) Holland, 1920

Sinonime: *Bacillus tetani* Nicolaier, 1884.
Numele comun: bacilul tetanic.

Infecţia produsă de bacilul tetanic este cunoscută din antichitate, dar agentul etiologic al infecţiei nu a fost identificat decît în 1884. In acest an, Carlo şi Rattone transmit boala la iepuri, folosind puroiul dintr-o plagă tetanigenă umană, iar Nicolaier, tot în 1884, descoperă izvorul infecţiilor spontane la om şi animale, inoculînd pămînt de grădină la animale de experiență — șoareci, cobai, iepuri; animalele injectate cu asemenea probe de pămînt s-au tetanizat, într-adevăr într-un procent ridicat — 69 de probe pozitive din 140 cercetate. Kitasato obține în 1889 germenul în cultură pură, iar 1 an mai tîrziu, Faber (1890) arată că filtratele culturilor pure, inoculate la animale, reproduc întru totul boala, demonstrînd prin aceasta, natura toxică a infecției. În același an, Behring și Kitasato realizează imunizarea animalelor contra toxinei tetanice și constată că serul animalelor imune avea proprietăți neutralizante și preventive.

Caractere morfologice și afinități tinctoriale. Bacilul tetanosului se prezintă, în culturi, ca și în puroiul plăgilor tetanigene, ca un bastonaș, lat de 0,4—0,6 microni și lung de 4—8 microni. În culturi, bacilii pot constitui lanțuri sau filamente. Bacilul este sporogen. Sporul este sferic sau oval; în frotiuri îl găsim liber sau atașat la unul din poli; în acest din urmă caz, germenul și sporul seamănă cu un băț de bătut toba. Mediile fără zahăr, precum și serul coagulat favorizează formarea sporilor. În general, aceștia apar în culturi după 1—10 zile. Unele tulpini sporulează, în același mediu mai intens ca altele.

Bacilul tetanosului este ciliat; cilii sînt numeroși și dispuși peritrich; mobilitatea celulelor este puțin activă. Condrea (1929) ca și alți cercetători au descris o variantă aciliată și deci imobilă, care se disociază din tulpinile mobile. Bacilul nu formează capsulă.

Este Gram pozitiv.

În frotiurile din culturi vechi se observă, pe lîngă numeroși spori, rari forme bacilare, Gram negative. Sporul, chiar în metoda Gram, are marginile colorate în violet, datorită unui strat subțire de citoplasmă care îl înconjoară; centrul sporului, în cazul colorării prin metoda Gram, este însă clar, necolorat. Bacilul nu prezintă nici o particularitate de colorație.

Ecologie. Bacilul tetanosului se găsește în pămînt. Pămîntul de grădină sau de ogor este mai bogat în germeni ca pămîntul de pădure sau cel nelucrat. Numărul bacililor variază de la un teren la altul: 1 g de sol poate conține 500—800 de bacili. Bacilii tetanici au mai putut fi izolați din praf, stofe, de pe piele, din gură, din carii dentare de la om etc. Sporii acestui bacil sînt, în mod curent, ingerați de animale și om, o dată cu alimentele; ei trec prin stomac fără a fi distruși, prin intestin, unde se pare că se înmulțesc, iar de aici ajung frecvent în materiile fecale, cu care se elimină în mediul exterior. Eliminarea este constantă prin materiile fecale ale bovideelor; într-adevăr, cercetîndu-se materiile fecale de la 55 de vaci s-au putut izola 44 tulpini. Calul, cobaiul și omul pot elimina la fel, sporii acestui bacil.

Agentul patogen al tetanosului, sub forma sa sporulată, se păstrează în pămînt, habitatul lui obișnuit, un timp indefinit. Nu s-a putut preciza dacă ei se pot transforma în forme vegetative și multiplica în pămînt; se pare că această transformare nu este posibilă și îmbogățirea terenurilor în spori tetanici se face numai prin materiile fecale ale animalelor și omului.

Sensibilitatea sporilor față de diverși factori fizici sau chimici. Temperatura de 80°C nu alterează viabilitatea sporilor, iar cea de 100°C nu distruge toți sporii; aceștia sînt sigur omorîți în 20 de minute la 115°C.

Lumina, mai ales în prezența oxigenului, este foarte activă; lumina difuză omoară o cultură în 5 zile. Această acțiune ar fi datorită producției de H_2O_2 în mediu. Apa oxigenată, într-adevăr, într-o concentrație de 1—2%, ucide sporii în 24 de ore, iar în concentrație de 30% în 5 minute. Lumina solară directă distruge sporii în 24 de ore.

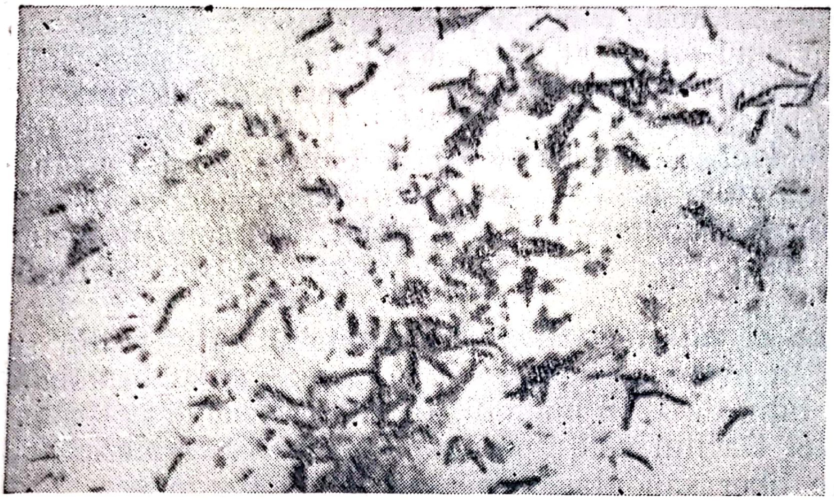


Fig. 121 — Clostridium tetani

Frotiu din cultură în bulion cu carne. Colorație: Gram

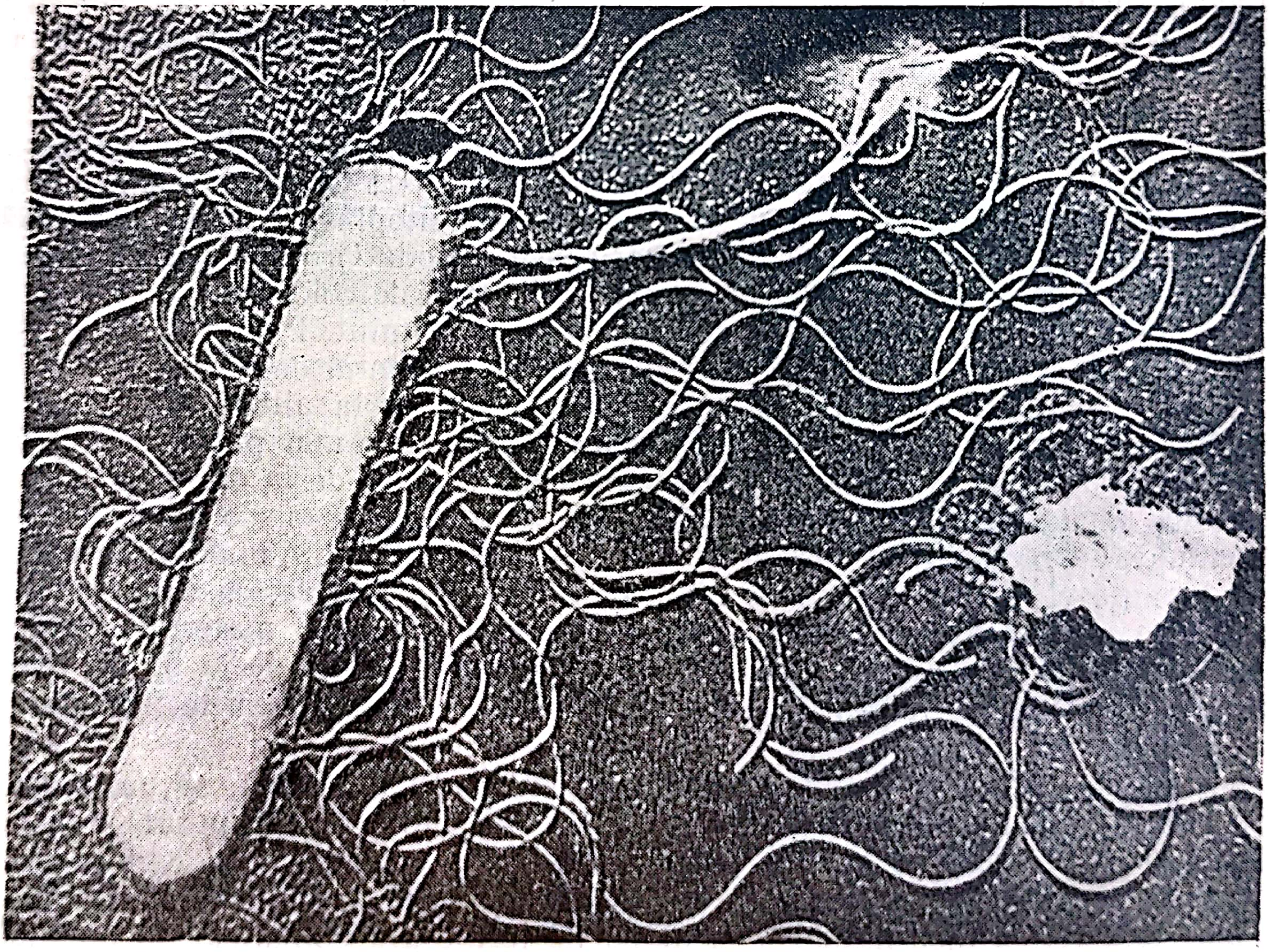


Fig. 122 — Clostridium tetani, tulpina Stoccolma; × 24 000

Se observă prezența a foarte numeroşi cili; unii dintre ei sînt împletiți (*dreapta sus*)

Medii şi caractere de cultură. *Izolarea bacilului.* Bacilul tetanosului este anaerob. Tulpinile izolate din pămînt sau din plăgi tetanigene nu se dezvoltă pe mediile obişnuite, în aerobioză; după eliminarea oxigenului, aceste medii permit însă multiplicarea germenilor. Bacilii se dezvoltă în bulionul obişnuit, căruia i se adaugă o substanţă reductoare ca cisteină, glucoză, porţiuni de muşchi, de ficat etc. În asociaţie cu bacterii aerobe, bacilul se dezvoltă în condiţii de aerobioză, pe agar, ser coagulat sau bulion peptonat. Apa peptonată nu convine decît unor tulpini. Bacilul se cultivă pe agar cu sînge şi glucoză în plăci Petri, dînd colonii pe suprafaţa mediului la o presiune de 3—15 mm de mercur. În mod obişnuit, bacilul se cultivă în bulion glucozat (însămînţarea se face îndată după sterilizare, în mediul proaspăt şi încă fierbinte, sau în medii regenerate prin fierbere: bulion cu carne, geloză Veillon, agar cu sînge şi glucoză etc.) Bulionul cu 0,5% agar este, după Condrea (1929), un mediu foarte bun, în special pentru cercetarea morfologiei coloniilor şi izolării diverselor variante. În plus, un asemenea mediu nu este sfărîmat de gazele produse de bacili. Temperatura optimă 36—38°; nu se multiplică sub 14°C, creşte însă în cîteva zile (în medii coloniile sînt vizibile după 5—6 zile), în gelatină la 20—22°C. pH-ul optim = 7—7,6; bacilul suportă variaţii cuprinse între valorile de pH de la 6.4 la 9.2.

Bulionul glucozat cu ficat, carne, creier sau albuş de ou coagulat oferă bune condiţii de multiplicare a bacilului. Majoritatea tulpinilor tulbură uniform mediul după o perioadă de incubaţie de 48 de ore; această tulburare se menţine mult timp. Tulpinile aparţinînd tipului III serologic dau o cultură aglutinată, lichidul rămînînd limpede. Cultura degajă un miros caracteristic de corn ars.

Laptele. Bacilul se dezvoltă în lapte, mai ales dacă mediului i se adaugă porţiuni de ficat. Iniţial, unele tulpini coagulează uşor laptele; coagulul de cazeină format se dizolvă însă mai tîrziu.

Geloza profundă Veillon sau chiar bulionul peptonat 1%, glucozat 1% şi gelozat 0.5% convine izolării şi conservării bacilului. Însămînţarea se face în mediu lichefiat şi răcit la 50—60°C. Mediul însămînţat se solidifică repede în apă rece şi tuburile se pun apoi la 37°C. Cultura este vizibilă după 24 de ore: coloniile izolate sînt rotunde, opace, înconjurate de arborizaţii foarte fine, care dau coloniei un aspect pufos. Bule de gaz pot lua naştere, din fermentarea glucozei, în jurul coloniei. Aceste bule, ieşind la suprafaţă, pot antrena germenii pe care îi seamănă pe traiectoria pe care ele au urmat-o; germenii astfel însămînţaţi se multiplică şi traiectoria devine opacă şi vizibilă. În agar moale 0,5%, Condrea (1929) a observat că unele tulpini constituie două feluri de colonii: unele sînt lenticulare, opace, mici, 1—1,5 mm în diametru, celelalte mari, 1—1,5 cm, floconoase, putînd avea un centru opac şi roind, atunci cînd sînt rare, în tot mediul. Primele colonii, considerate de autor (1930) drept forme rough (R), conţin germeni imobili, aciliaţi, cele de la doilea tip, considerate smooth (S), din contra, sînt constituite de celulele mobile şi ciliate. Condrea (1930) întîlneşte şi forme intermediare, situate între S şi R. În general, forma coloniei reflectă, într-o oarecare măsură, proprietăţile morfologice ale ger-

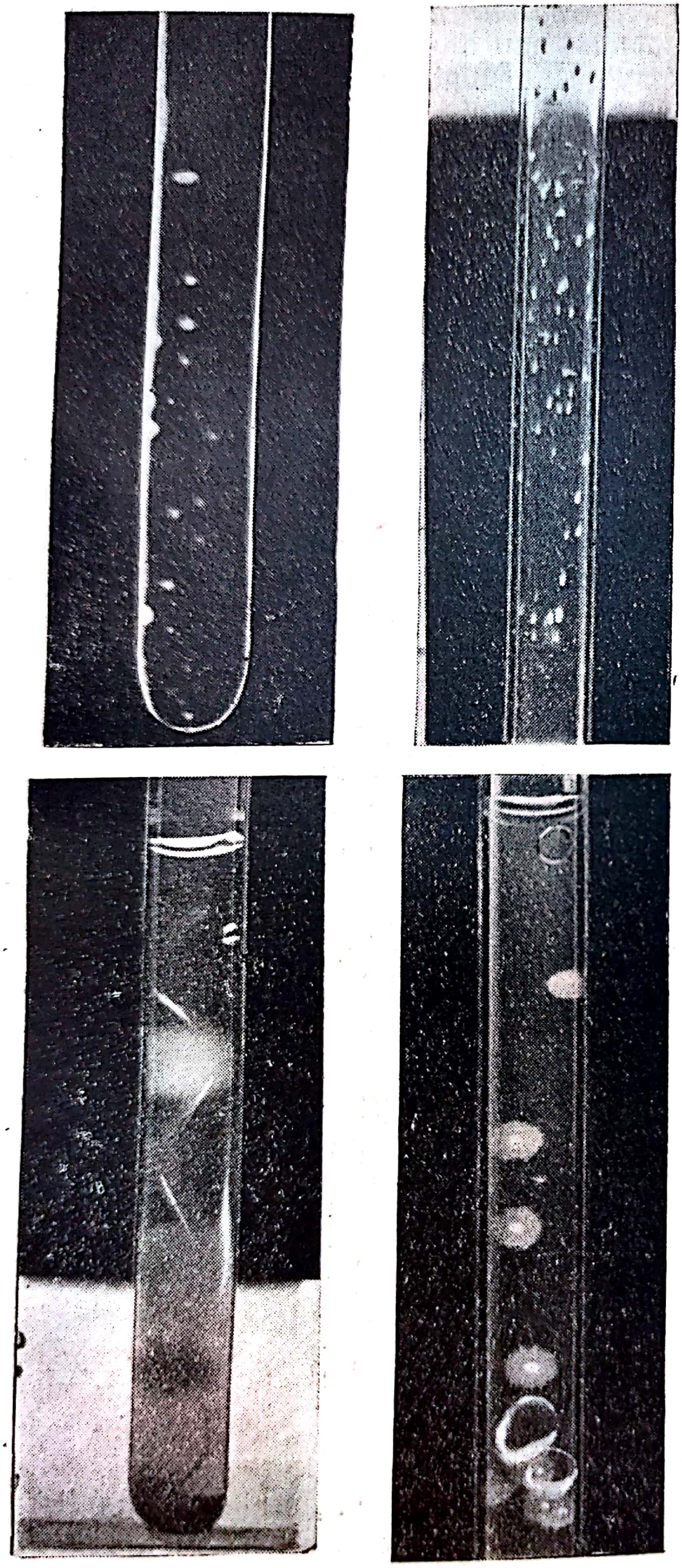


Fig. 123 — Clostridium tetani
Diferite aspecte culturale în geloza Veillon

menilor care o compun şi în special dă indicaţii asupra prezenţei sau absenţei germenilor mobili.

Bacilul, însămînţat prin înţepătură, în geloză Veillon dă o cultură arborescentă în jurul liniei de însămînţare.

Gelatina. Bacilul se dezvoltă în gelatină după o perioadă de incubaţie de 10—14 zile la temperatura de 20—22°C. Mediul este lichefiat.

Mediul de creier se prepară astfel : creierul proaspăt se taie în bucăţi mici şi se amestecă cu apă în proporţii de 2 părţi creier şi 1 parte apă ; totul se trece printr-o sită de sîrmă sau păr, se fierbe 2 ore şi a doua zi se repartizează în tuburi. Pentru sterilizare, mediul se încălzeşte apoi 2 ore la 110°C. Bacilul tetanic se dezvoltă în acest mediu pe care îl înnegreşte după o perioadă de incubaţie de 2—3 zile. Reacţia serveşte ca mijloc de diagnostic diferenţial şi este datorită sulfurii de fier, care ia naştere din combinaţia fierului cu hidrogen sulfurat.

Agarul cu sînge şi glucoză a fost recomandat de Zeissler, în 1917, pentru cultivarea anaerobilor în suprafaţă şi se prepară astfel : agarul nutritiv preparat din bulion de carne şi conţinînd 1,5—3% agar (cantitatea de agar variază în raport cu puterea sa solidificantă) şi 2% glucoză se distribuie cîte 60 ml în tuburi largi ; tuburile se sterilizează 30 de minute la 110°C şi se păstrează apoi la gheţar. Pentru însămînţare, tuburile se încălzesc pentru a topi agarul, se răcesc apoi în jurul temperaturii de 45°C și se adaugă, în fiecare tub, 12—15 ml de sînge proaspăt de om sau bou; după ce se amestecă bine sîngele cu mediul, fără a se produce însă bule de aer, conținutul unui tub se varsă în 3—4 plăci Petri. Zeissler recomandă ca sîngele să fie pus în mediu îndată după recoltare, deoarece prin defibrinare se elimină, pe de o parte, fibrina, care constituie un element nutritiv important pentru anaerobi, iar, pe de altă parte, se înlesnesc infecțiile secundare. Plăcile se însămînțează după solidificare și uscare; pentru a grăbi uscarea, plăcile se pot pune deschise, cu gura în jos, în etajul superior al termostatului. Plăcile însămînțate se pun într-un vas ermetic închis, din care aerul se scoate, sub controlul unui manometru, prin pompa de vid. Anaerobii Gram pozitivi dau pe suprafața acestui mediu 10 tipuri de colonii. Bacilul tetanic se dezvoltă pe acest mediu sub două aspecte: unul constituit din colonii delicate, cu prelungiri laterale, fine, vizibile numai cu lupa, celălalt din colonii mici, rotunde înfundate în mediu, fără culoare sau colorate în gri, desvoltîndu-se încet și fiind înconjurate de o zonă de hemoliză.

Izolarea bacilului din conținutul plăgilor tetanigene, materii fecale, pămînt etc. a fost realizată de diverși cercetători. Kitasato însămînța, în acest scop, puroiul plăgilor tetanigene pe ser coagulat; bacilii tetanici, dacă erau prezenți în materialul însămînțat, se dezvoltau în acest mediu, deoarece ei erau favorizați de flora aerobă totdeauna prezentă într-un asemenea puroi; prezența bacililor tetanici în culturi era controlată microscopic și, în cazul prezenței lor, o suspensie din această floră variată, eventual pusă în tuburi capilare care se închideau la ambele capete, era încălzită 45—60 de minute la 80°C sau cîteva minute la 100°C. Formele vegetative ale tuturor speciilor bacteriene și chiar sporii unora din ele erau astfel distruși, în timp ce sporii tetanici rezistau, și la transplantările făcute în medii potrivite puteau să dea o cultură pură de bacili tetanici. Cînd cultura nu este pură, izolarea se poate încerca fie pe medii solide, fie prin inoculări la animale. Izolarea din culturi mixte sau direct din materialul suspect se poate face prin inoculări la animale dacă materialul folosit nu conține, în afara bacilului tetanic și alte specii patogene, în special anaerobe. Riegler recomandă inocularea materialului suspect pe cale intraperitoneală, la șoareci însămînțările făcîndu-se, din lichidul acestei cavități, cîteva ore după injecție. Izolarea tulpinilor de bacili tetanici, chiar din plăgile tetanigene, se face cu mare greutate și rareori se obțin rezultate pozitive.

Proprietăți biochimice. Bacilul tetanosului are reduse proprietăți zaharolitice; glucoza este singura substanță hidrocarbonată care pare a fi atacată slab și numai de unele tulpini. De altfel, Condrea (1929) a examinat 104 tulpini și a obținut numai rezultate negative, ceea ce i-a permis să conchidă că bacilul nu fermentează glucoza. Acest hidrocarbonat este adăugat mediilor de cultură pentru funcțiile sale oxidoreductoare și nu pentru a fi folosit ca material nutritiv. Aminoacizii sînt însă energic descompuși, producîndu-se acid carbonic, hidrogen sulfurat, amoniac și diverși acizi volatili, în special acid acetic. In culturile în medii lichide se găsește constant indol. Bacilul reduce albastrul de metilen.

Structură antigenică. În cadrul speciei s-au identificat, pe baza reacției de seroaglutinare, mai multe tipuri serologice — opt după unii cercetători, zece după alții, Fildes (1925), Coleman și Gunnison (1928), precum și Condrea (1930) identifică șase tipuri. Toate tipurile au antigenul somatic comun și diferențele între ele se referă numai la antigenii flagelari. Între aceste diverse tipuri serologice nu se constată deosebiri în ceea ce privește toxina secretată. Toate tipurile secretă aceeași toxină. Tipurile toxigene II, IV, V și IX, au un al doilea antigen somatic (O) care este absent însă la aceleași tipuri netoxigene.

Patogenitate. Bacilul tetanosului de regulă nu pătrunde și nu se multiplică în țesuturile vii. Invazia unui organism se poate realiza totuși prin anumite artificii experimentale. Astfel, cobaii inoculați cu spori tetanici detoxificați prin încălzire și apoi puși la termostat pînă ce temperatura animalelor atinge 42—42,5°C și trecuți, în fine, la temperatura camerei, mor în 2—3 zile, prezentînd, la autopsie, o septicemie cu bacili ai tetanosului. Ciucă (1907) observă de asemenea o diseminare a bacililor la șoarecii care, după inocularea cu spori, erau ținuți fie la termostat, fie la ghețar la 4°C. Acești șoareci mureau de tetanos în timp ce cei tratați în același condiții, dar ținuți la temperatura camerei nu făceau tetanos. La animalele infectate spontan sau experimental nu se observă, în mod obișnuit, un asemenea proces. S-a observat chiar că la animalele moarte în urma inoculării unei culturi integrale, bacilii nu se găsesc nici la locul de inoculare și nici în organe. În urma acestor experiențe, precum și a celor făcute de Faber și care dovedeau capacitatea tetanigenă a filtratelor abacilare, s-a conchis că moartea animalelor se datorește exclusiv produselor bacilare de secreție și că bacilii nu au direct nici un rol în producerea întregului cortegiu simptomatic care caracterizează tetanosul. Această afirmație își găsește un sprijin și în constatarea făcută de Vaillard și Rouget (1892) după care sporii injectați singuri, fără produsul lor de secreție, sînt inofensivi pentru animalele cele mai sensibile. Asemenea spori, lipsiți de toxină, se pot obține prin cultivarea bacilului timp de cîteva zile în gelatină, la temperatura de 20—22°C sau încălzind o cultură timp de 90 de minute la 65°C sau mai bine 1 oră la 70—80°C. Sporii obținuți în acest fel și introduși în țesuturile vii dispar, așa cum au demonstrat Vaillard și Rouget fără a produce vreun efect patogen. Dispariția sporilor din țesuturile vii se datorește acțiunii prompte a fagocitelor ; acestea înglobează sporii fără a-i distruge și îi poartă, captivi, în tot organismul. Ei se conservă mult timp sub această formă în organism și au putut fi izolați, din diverse organe, cîteva luni după inoculare. Înlăturînd fagocitoza, sporii devin capabili, chiar dacă sînt lipsiți de toxină, să producă tetanosul la animalele de experiență. Autorii citați observă, într-adevăr, că sporii detoxificați inoculați împreună cu substanțe antileucocitare, cum sînt chinina sau acidul lactic, sau cu bacterii — stafilococi, colibacili etc. — provoacă un tetanos experimental. Sporii, protejați față de leucocite prin efectul chimiotactic negativ al substanțelor sau bacteriilor arătate mai sus, vegetează, iar din multiplicarea formelor vegetative rezultă toxina tetanică. Fenomenul a fost confirmat, dar explicația dată nu pare a fi în totul valabilă. Într-adevăr, diverși cercetători, examinînd soarta sporilor inoculați în țesuturile vii ale diverselor animale de experiență, au constatat că nu toți sporii introduși sînt fagocitați; unii spori, deși sînt liberi, nu vegetează în țesuturile vii, din cauză că nu sînt condiții favorabile și, în special, prezența oxigenului împiedică transformarea sporilor în forme vegetative. Țesuturile sănătoase sînt, în mod normal, aerate de către sîngele din capilare. În țesuturile necrozate nu există un aport de oxigen și, pentru acest motiv, sporii introduși o dată cu substanțele sau cu bacteriile cu acțiune necrozantă intoxică animalele de experiență. Intr-adevăr, toate substanțele (clorura de calciu, saponina, diverse culturi bacteriene) care produc o necroză a țesuturilor pot fi asociate, în vederea intoxicării unui animal, cu spori tetanici debarasați de toxină. Mai mult încă, un animal se poate tetaniza cu asemenea spori nu numai în cazul cînd prezintă un focar la locul de inoculare, ci și cînd are o necroză tisulară în altă regiune a corpului. Galea și Falcheti (1931) demonstrează acest lucru în felul următor: ei inoculează trei loturi de cobai; fiecărui cobai din cele trei loturi i se inoculează, pe cale subcutană, în regiunea ventrală, cîte 50 mg de spori tetanici spălați și încălziți 1 oră la 80°C; cobaii din primele două loturi au fost inoculați, pe cale subcutană, în regiunea dorsală și cu 3 zile înainte de administrarea sporilor, fie cu bacili ai tuberculozei avirulenți, fie cu făină de pămînt de infuzorii. Ei prezentau, în momentul inoculării sporilor tetanici, un focar inflamator și necrotic, produs de bacilii avirulenți sau de pămîntul de infuzorii. Autorii observă tetanizarea animalelor care prezentau focare inflamatorii, în special cele care fuseseră inoculate cu pămînt de infuzorii, în timp ce nici unul din cobaii inoculați numai cu spori tetanici nu s-a îmbolnăvit.

Ionii de calciu par a avea un rol important în producerea infecției tetanice. Observații diverse arată că tetanosul spontan este frecvent în regiunile în care pămîntul este bogat în calciu. Ionii de calciu, care pătrund o dată cu pămîntul și sporii tetanici în țesuturi, pare că favorizează, în mod deosebit, vegetația acestora din urmă.

Toxina tetanică. Sporii tetanici, datorită incapacității lor de a se transforma, în țesuturile vii, în forme vegetative, sînt lipsiți de nocivitate, produsele care rezultă în cursul multiplicării bacililor in vivo sau in vitro, fiind singurele răspunzătoare de efectul patogen. Aceste produse, provoacă boala chiar și în afara prezenței bacilului secretor. Knud Faber a făcut această observație încă din 1890. In cursul cercetărilor sale el însămînța serul sanguin cu pămînt de grădină, încălzit 5 minute la 100°C; cultura mixtă (bacili tetanici și diverși saprofiți sporulați) obținută era trecută prin filtrul Chamberland și filtratul lipsit de orice bacterie cultivabilă, producea la animalele de experiență aceleași simptome ca și cultura integrală. După ce bacilul tetanosului a fost obținut în cultură pură, produsele sale de secreție au putut fi în amănunt studiate. S-a putut constata, în aceste condiții, că producția de toxină este condiționată de tulpină, mediu, vechimea culturii însămînțate etc. Tulpinile izolate din plăgi tetanigene sunt în marea lor majoritate toxigene, în timp ce tulpinile izolate din pămînt sînt apatogene în proporție de aproape 50%.

Activitatea toxinei variază în limite largi de la o tulpină la alta. Condrea constată că variantele mobile sînt mai toxigene ca cele lipsite de mobilitate. Tulpinile toxigene pot pierde în parte sau total, această proprietate.

Mediile de cultură influenţează producţia de toxină. In mod obişnuit, pentru a obţine concentraţii mari de toxină în medii, bacilii se cultivă în bulion de carne de viţei sau bou, mai rar de cal, peptonat 1/100 şi glucozat 1/100. Reacţia mediului trebuie să fie neutră sau uşor alcalină. Toxina se distruge în medii prea acide, pH = 5,8 sau mai scăzut. Mediile alcaline, glucozate, se pot acidifica în cursul dezvoltării germenului, prin fermentarea glucozei, toxina produsă putîndu-se, din această cauză, inactiva. Pentru a mări producţia de toxină, diverşi autori adaugă bulionului de viţel diverse substanţe. Astfel, serul proaspăt în concentraţie de 2%, sulfatul de sodiu 0,5—1%, globulele roşii de măgar, triptofanul etc. ar favoriza producţia de toxină.

În general, pentru prepararea toxinei tetanice, ca şi a toxinei altor anaerobi, se folosesc, pe lîngă bulionul peptonat sau glucozat, şi alte medii, şi în special mediul Vf (viande, foie = carne, ficat) sau mediul din singe al lui Szelyes.

Mediul Vf (Weinberg şi Goy) se prepară astfel:

In 20 l de apă de robinet încălzită pe o baie de apă la 50°C se pun 4 kg de carne de bou tocată, 1,350 g de ficat de bou tocat, 200 ml de acid clorhidric pur şi concentrat, cu densitatea 1,19; totul se agită şi temperatura amestecului se aduce la 48°C; se adaugă apoi 12 g de pepsină praf (titrul 500); pepsina poate fi înlocuită cu stomac de porc tocat (2 400 g), care se adaugă în acest caz o dată cu tocătura de carne şi ficat. Amestecul este ţinut la temperatura de 48°C timp de 24 de ore (1 zi) pentru digestie; apoi se încălzeşte repede la 80°C pentru a opri digestia, se filtrează prin vată de sticlă şi lichidul, încă fiind cald, se tamponează şi alcalinizează, adăugîndu-i 20 g de fosfat de sodiu, precum şi hidrat de sodiu soluţie 10%, pînă la pH=7,6. Se fierbe la 100°C timp de 5 minute. Se trece prin hîrtie de filtru şi lichidul clar, repartizat în baloane, se autoclavează 30 de minute la 105°C. Lichidul constituie bulionul de bază. In vederea preparării mediului se amestecă:

bulion de bază	1 000
soluţie de hidrat de sodiu 10%	50 ml aproximativ
glucoză	10 g
clorură de sodiu	5 g
fosfat bipotasic	2 g

pH-ul final = 7.4

Amestecul se sterilizează după repartizare în tuburi sau baloane, în care, în prealabil, se pot adăuga porţiuni de ficat de bou fiert 20 de minute în apă.

Mediul Szelyes

1 kg de cheag de sînge, plus 1 l de apă distilată se fierb timp de 1—2 ore şi apoi totul se trece întîi printr-o pînză groasă şi apoi prin hîrtie de filtru. Lichidul este tulbure şi are o culoare roşie-brună; se distribuie în flacoane şi se sterilizează. In fla-

ceane se constituie cu timpul un depozit, lichidul clarificîndu-se. Acest lichid se decantează cu atenție, se completează cu apa distilată pînă la volumul inițial și apoi i se adaugă 3% peptonă, 0,5% clorură de sodiu chimic pură și totul se fierbe cel puțin 1 oră. In timpul cînd fierbe se adaugă amidon de cartof în proporție de 2% (amidonul se adaugă după solubilizarea sa în puțină apă distilată, încălzită la 50—60°C). Se fierbe încă 5—10 minute. Se alcalinizează cu soluție n/1 pe NaOH pînă la pH = 8,0—8,2 (culoarea albastră a hîrtiei de turnesol). Se filtrează prin hîrtie de filtru și se sterilizează la autoclav în recipiente convenabile.

O variantă a acestui mediu se prepară în același fel, însă extractul se face din 1 parte cheag de sînge și 1 parte carne de cal, iar amidonul de cartof este înlocuit cu glucoză.

Dat fiind că în anaerobioză strictă producția de toxină este mai accentuată ca în în prezența unei cantități mai mici sau mai mari de oxigen, se pot adăuga mediilor lichide, folosite de producția de toxină, în vederea realizării anaerobiozei necesare, pe lîngă glucoză și alte substanțe cu proprietăți reductoare, cum sînt bucăți de carne, cisteină, sau mediul se poate acoperi, în același scop, cu un strat de ulei de parafină. S-a constatat de asemenea că toxinogeneza unor tulpini este maximă într-o atmosferă de hidrogen.

Materialul însămînțat determină, după observațiile făcute de Condrea și alți cercetători, într-o mare măsură, conținutul filtratului în produși toxici. Astfel, bulionul de bou, peptonat și glucozat, însămînțat cu o cultură proaspătă de 24 de ore în bulion, cultură care, la rîndul ei, a fost însămînțată dintr-o cultură pe geloză semifluidă veche de 4 luni, dă o toxină care omoară șoarecele de 15 g în 3 zile, într-o diluție de ${}^{1}/_{10\,000}$, ${}^{1}/_{15\,000}$. Același mediu, însămînțat direct (fără o prealabilă antrenare a germenului prin 2—3 pasagii, la 24 de ore interval) cu o cultură în bulion sau în geloză moale veche de cel puțin 10 luni, dă o toxină care omoară șoarecele în diluție de ${}^{1}/_{200\,000}$ sau ${}^{1}/_{300\,000}$.

In general, se recomandă ca tulpinele folosite la prepararea toxinei tetanice să fie conservate în agar moale 0,5—0,6%, în tuburi închise la flacără. Baloanele cu mediu se însămînțează îndată după sterilizare și răcire la 50—60°C, cu culturi în agar moale, vechi de cel puțin 18 luni. Multiplicarea devine vizibilă chiar de a doua zi, cînd jumătatea inferioară a mediului este opalescentă, în timp ce jumătatea superioară este încă limpede. In zilele următoare, germenii se răspîndesc în tot mediul, care devine intens tulbure. Filtrarea se face după o incubație de 7—10 zile. In vederea descoperirii momentului în care toxina se găsește într-o concentrație maximă în mediu, se pot face determinări la diverse intervale de timp, adică se extrage o cantitate mică de cultură din balon, se centrifughează și lichidul supernatant se inoculează în doze diferite la șoareci. A doua zi, prin examenul șoarecilor inoculați se și poate preciza, cu o mare aproximație, concentrația în care se găsește toxina în diversele recipiente examinate. Cultura, în vederea obținerii toxinei, se trece întîi prin hîrtie de filtru amestecată cu pămînt de infuzori și apoi prin filtru Seitz, care reține corpii bacterieni.

Proprietăţile toxinei tetanice. În filtratul culturilor de bacili tetanici se găsesc două substanţe toxice, şi anume : tetanolizina şi tetanospasmina. În afară de aceste două exotoxine, unii cercetători afirmă că în corpul bacililor s-ar găsi o endotoxină a cărei prezenţă ar explica observaţiile după care cultura tetanică integrală ar produce tulburări în plus, în raport cu toxina singură. Această endotoxină ar produce un abces local, cînd este inoculată subcutan la animale de experienţă.

Tetanolizina este secretată numai de unele tulpini şi prezenţa ei într-un filtrat nu este legată de prezenţa tetanospasminei. Sînt, într-adevăr, tulpini care nu produc tetanospasmină, dar produc tetanolizină. Tetanolizina produce hemoliza globulelor roşii.Unii autori îi atribuie proprietăţii leucotoxice şi antifagocitare ; ea ar înlesni, prin aceste proprietăţi, procesul infecţios. Dintr-un filtrat care conţine ambele exotoxine, tetanolizina se poate separa din amestec cu ajutorul globulelor roşii ; ea este fixată de aceste elemente şi se separă o dată cu ele, prin centrifugare. Tetanolizina apare, într-o cultură de bacili tetanici, repede după însămînţare, concentraţia maximă fiind atinsă în mediu după 19 ore ; substanţa este extrem de fragilă, ea se distruge în 10 minute la 60°C, în 20 de minute la 50°C şi în cîteva ore la temperatura camerei. Contactul cu aerul, cu acizii, substanţe lipoide, extracte alcoolice din ser, extracte eterice din globule roşii o inactivează, prin adsorbţie. O acţiune similară o au şi unele substanţe inerte ca sulfatul de bariu, cărbunele animal şi de lemn, caolinul, talcul etc. Ea este reţinută în parte şi de filtrele Berkefeld.

Tetanospasmina este otrava tetanică propriu-zisă ; tulpinile care nu o secretă sînt lipsite de patogenitate. Ea este conţinută în cantităţi maxime de filtratul culturilor vechi de 7—10 zile sau mai mult. În medii lichide în care ia naştere ea se alterează uşor sub influenţa diverşilor factori fizici sau chimici. Lumina solară directă, de exemplu, o distruge, în prezenţa aerului, în cîteva zile ; lumina difuză este mai puţin activă. Unele substanţe ca eozina, în concentraţie de 0,5%, măresc activitatea distructivă a luminii datorită acţiunii lor fotodinamice. Temperatura de 65°C o alterează, iar cea de 80°C o inactivează complet în 3 ore. Bila proaspătă de cobai neutralizează tetanospasmina în 6 ore la 37°C ; 0,2 ml de bilă pentru 10 doze minime mortale de toxină. Ţesutul cerebral o inactivează după cîteva ore de contact. Este foarte sensibilă faţă de acizi ; diverse substanţe antiseptice — soluţia Lügol, formolul — o inactivează. Filtratele culturilor de *Bac. subtilis* inactivează de asemenea toxina tetanică, în vitro. Tetanospasmina precipită în prezenţa sulfatului de amoniu şi această proprietate este folosită pentru purificarea şi concentrarea toxinei tetanice. În acest scop se adaugă 700 g de sulfat de amoniu pentru 1 l de filtrat. După 12—14 ore depozitul constituit se separă prin decantare, se usucă în vacuum, în prezenţa acidului sulfuric sau altei substanţe higroscopice cum este P_2O_5 sau Cl_2Ca ; pulberea obţinută, conservată în fiole închise la flacără, îşi păstrează lung timp aceeaşi activitate şi, sub această formă, rezistă 15 minute la 120—135°C. Sub formă uscată ea este extrem de higroscopică şi fixînd apa îşi reduce activitatea. Pentru a evita acest inconvenient, toxina uscată se dizolvă în apă şi se amestecă apoi cu un volum egal de glicerină. Un asemenea amestec conservă acelaşi titru toxic timp de 10 luni.

Concentrarea și purificarea toxinei tetanice se pot realiza prin adsorbții și eluții repetate. Absorbția se face pe hidroxid de aluminiu cu 0,5% substanță uscată, la un pH=6. Desfacerea toxinei din complexul constituit se obține cu o soluție de amoniac 0,05%. Repetînd de trei ori această operație — a treia adsorbție se face cu caolin, la un pH=3,8 — se obține o toxină care nu conține decît 10% azot, și care nu dă reacția biuretului și Millon; produsul, obținut în acest mod, este de 240 de ori mai activ ca cel de la care s-a plecat.

Pillemer și col. (1946) au obținut toxina tetanică sub formă cristalizată. Produsul conține 5—7,5$\times$10^7 DL$_{50}$ pentru șoarece pentru 1 mg de azot.

Infecția experimentală. Toxina, cultură integrală, precum și sporii. atunci cînd sînt puși în condiții care să le permită vegetația, produc la animalele sensibile tulburări grave, datorite localizării otrăvii bacteriene pe sistemul nervos. Localizarea pe sistemul nervos se datorește afinității țesutului cerebral, în special a celulelor din substanța cenușie, pentru toxină. Această afinitate a fost pusă în evidență prin experiențele făcute in vitro și care au arătat că o suspensie de țesut cerebral fixează, fără a distruge, toxina tetanică. Asemenea adsorbții se întîmplă și in vivo în cursul intoxicației tetanice și s-a constatat că țesutul cerebral al animalelor tetanizate, pus în suspensie în apă fiziologică, eliberează încet toxina în lichid.

Specii sensibile. Toxina tetanică este activă față de organismele diverselor specii animale. Gradul de receptivitate a diferilor specii variază în limite foarte largi. Calul pare a fi cel mai sensibil; omul este tot așa de sensibil și poate chiar mai sensibil decît calul; păsările, în special găina (Courmont și Doyon, 1893), sînt foarte rezistente; celelalte specii domestice ocupă o poziție intermediară. Dintre animalele de experiență, cobaiul este cel mai sensibil, șoarecele și iepurele avînd un grad oarecare de rezistență. S-a stabilit (Behring și Ranson, 1898) că volumul de toxină capabil să omoare 1 g de șoarece poate omorî 12 g de cal, 6 g de cobai, 0,5 g de capră, 1/100 g de iepure, 1/600 g de pisică, 1/1 000 g de gîscă, 1/4 000 g de porumbel și 1/30 000 g de găină. Cu alte cuvinte, găina este de 30 000 de ori mai rezistentă decît șoarecele, porumbelul de 4 000 de ori, gîsca de 1 000 de ori etc. În schimb, calul este de 12 ori mai sensibil decît șoarecele, iar cobaiul de 6 ori. Cîinele este socotit de 300 de ori mai rezistent decît calul și de 50 de ori mai rezistent decît șoarecele. El poate fi însă infectat (Vassian, 1894). Mecanismul rezistenței unor specii animale cum sînt, în special, păsările, nu este cunoscut. Vaillard (1891), Watanabe (1939) au arătat că această rezistență nu se datorește existenței unor anticorpi circulanți. Ea nu pare a fi datorită nici impermeabilității barierelor hematoencefalice. Davies și colaboratorii (1955) au observat, în acest sens, că porumbeii au o rezistență însemnată chiar cînd toxina este introdusă direct în creier, ceea ce arată că nereceptivitatea porumbeilor nu se datorește impermeabilității barierei hematoencefalice. Se pare că există o relație între sensibilitatea unei specii și afinitatea pe care substanța cerebrală o are față de toxină, in vitro. Wassermann și Takaki (1898) au arătat, în această privință, că o emulsie de creier de cobai sau de șoarece detoxifică un filtrat toxic, în timp ce o emulsie de creier de găină, așa cum reiese din lucrările lui Mecinikov (1898), nu realizează această detoxificare.

Animalele cu sînge rece sînt, în general, refractare. Injectate cu toxină și ținute la temperaturi convenabile, ele se pot însă tetaniza și procesul morbid se instalează cu atît mai repede, cu cît temperatura este mai ridicată. Broasca, de exemplu, se tetanizează în 12 zile la 25°C și în 4 zile la 37°C.

Sensibilitatea indivizilor din aceeași specie variază în raport cu rasa, vîrsta, starea de nutriție etc. Cobaii albinoși sînt mai sensibili ca cei pigmentați; animalele tinere sînt mai receptive ca cele adulte; vitaminozele măresc sensibilitatea organismului animal față de toxina tetanică. Imunitatea antitetanică, dobîndită pe căi naturale, este destul de frecventă la unele specii animale și ea influențează, într-o mare măsură, gradul de receptivitate a unui organism.

Activitatea toxică a aceleiași toxine, pentru aceeași specie animală — șoarece, cobai — variază în limite largi și în raport cu lichidul în care se face diluția.

Condrea și Poenaru (1933) observă că, în general, o toxină este mult mai activă cînd este diluată în bulion decît atunci cînd este diluată în apa distilată. După autori, aceeași toxină brută are d.l.m. pentru șoarece de 1/2 000 000 cînd este diluată într-o soluție de glucoză 1 %, de 1/3 000 000 cînd este diluată în apă distilată sau în soluție de fosfat bibazic de sodiu 1 %, de 1/4 000 000 cînd este diluată în apă fiziologică, de 1/10 000 000 cînd este diluată cu o soluție de peptonă 1 %. Reiese din aceste cercetări că soluțiile de peptonă activează cel mai mult toxina tetanică. Aceste cercetări au fost confirmate și de alți autori, care au constatat însă că efectul adițional al diverselor lichide variază de la o tulpină la alta; toxinele unor tulpini sînt activate mai mult, ale altora mai puțin sau de loc. Toxinele slabe sînt mai puțin influențate ca cele puternice, ceea ce s-ar explica prin aceea că primele, omorînd animalul numai cu doze mari, conțin în însăși doza letală o cantitate suficientă de bulion activant. Activarea toxinei prin diverse lichide nu se realizează pentru toate speciile sensibile. Bulionul peptonat, de exemplu, activează toxina pentru șoareci și cobai, dar nu pentru iepuri și pisică. Condrea și Poenaru (1933) observă că injectarea peptonei la un animal înainte de inocularea toxinei mărește titrul toxic al acesteia, ceea ce arată că adjuvantele acționează asupra organismului animal, mărindu-i receptivitatea și nu direct asupra toxinei.

Procesul de activare a toxinei prin diverse lichide trebuie luat în considerare, el putînd fi un izvor de greșeli în titrarea acestui produs. De asemenea, modul de lucru și tratare a diluțiilor influențează titrul toxinei. Ramon și colaboratorii (1938) constată, în această privință, că titrul unei soluții de toxină poate fi sensibil modificat prin barbotare cu aer, prin agitație etc. Aceste date arată că toxina tetanică este foarte labilă.

Poarta de intrare. Rapiditatea instalării infecției și tipul ei clinic sînt condiționate de țesutul și regiunea în care s-a introdus materialul patogen. Cu cît injecția se face mai departe de centrii nervoși, cu atît primele simptome apar mai tîrziu. La animalele de talie mică, cu nervii scurți, perioada de incubație este mai redusă ca la animalele de talie mare, cu nervii lungi. Aceste constatări arată deja că toxina merge de la periferie spre centrii nervoşi pe traiectul nervilor. Diversele ţesuturi nu sînt egal de receptive, dar infecţia, cu însemnate variaţii de doză, se face regulat pe cale parenterală. Injecţiile subcutane şi în special intramusculare se practică cel mai frecvent în laboratoare. Injecţiile intravenoase dau rezultate pozitive: se produce o intoxicaţie cu o perioadă de incubaţie mai lungă, în raport cu injecţia intramusculară, dar cu o evoluţie mai scurtă. Doza, pe cale intravenoasă, este mai mare ca pe cale intramusculară, ceea ce se explică prin aceea că toxina se diluează mult în sînge; se pare că ea este captată şi distrusă în marile organe. Pe cale intracerebrală, doze reduse de toxină produc, la iepure, un tetanos epileptiform, şi moartea, în formele acute, survine în 12—20 de ore, iar în cele cronice în 10—14 zile. Pe cale intraneurală, doza activă este foarte mică şi simptomele apar mai repede ca pe alte căi, în special calea intramusculară. Prin injecţii practicate în coarnele anterioare ale măduvei spinării s-a putut provoca un tetanos dureros, care se manifestă prin dureri vii localizate în regiunile cutanate enervate de centrii medulari inoculaţi. Contracţii musculare nu se observă în aceste cazuri şi moartea pare a fi datorită epuizării organice.

Toxina este inofensivă pe cale digestivă deoarece, pe de o parte, ea nu poate traversa mucoasele digestive intacte, iar, pe de altă parte, ea este distrusă în stomac de aciditatea sucului gastric, iar în intestin de flora bacteriană normală şi de bilă. Mucoasa integră a căilor respiratorii este de asemenea impermeabilă pentru toxină şi inhalaţiile de filtrate sau culturi de bacili tetanici sînt inofensive. Se citează totuşi cazuri de intoxicaţie tetanică la om în urma manipulaţiei toxinei uscate şi pulverizate în laborator. In acest caz, se pare că toxina pătrunde prin mucoasa conjunctivală, care ar fi mai permeabilă pentru toxina tetanică decît mucoasa bucală sau nazală.

Căile de acces spre centrii nervoşi. Toxina injectată intramuscular sau subcutan este adsorbită de filetele nervoase locale şi vehiculată, prin axonii nervilor motori, în celulele motorii din coarnele anterioare ale măduvei spinării. Nervii sensoriali şi simpatici adsorb şi ei toxina, dar se pare că nu o conduc spre centrii nervoşi. Se observă, în acest sens, că injecţia toxinei în nervii sensoriali produce un tetanos dureros, care diferă de tipul clinic obişnuit. La fel, cîinele nu se intoxică injectîndu-i toxina în nervul postibial, care este pur sensorial.

Ipoteza transportului toxinei prin filetele nervoase nu a fost unanim admisă. Unii cercetători au afirmat că transportul se face prin limfaticele epi- şi perineurale, alţii prin spaţiile interfibrilare ale nervilor, iar alţii, în fine, cred că toxina este dusă spre centrii nervoşi de sînge şi limfă. Aceste afirmaţii nu par a corespunde realităţii. Astfel, limfaticele epi- şi perineurale, după unii anatomişti, nu pătrund în canalul rahidian şi deci ele nu pot duce toxina în centrii nervoşi care se găsesc în aceste canale. Pe de altă parte, s-a mai constatat că dacă se secţionează nervul sciatic deasupra locului de injecţie a toxinei, nu se constată prezenţa toxinei în partea superioară a secţiunii, deşi nervul a păstrat toate legăturile vasculare şi limfatice cu partea inferioară a nervului, precum şi cu regiunea în care s-a făcut injecţia. La fel şi în acelaşi sens s-a observat că nervii care au pierdut integritatea cilindrilor acşi nu mai fixează toxina şi nu o mai transportă spre

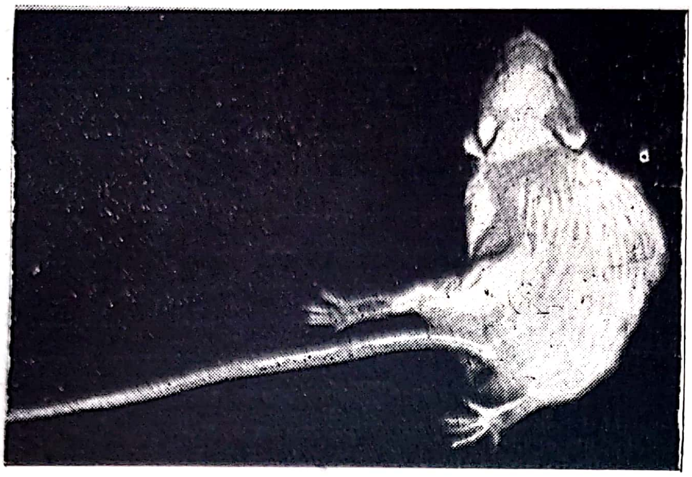


Fig. 124 — Intoxicația tetanică la șoarece (după Nielsen și Rowsell, 1956)

centri nervoși, comportîndu-se astfel ca și nervii secționați. Se observă de asemenea că animalele imunizate pasiv pot face un tetanos local dacă sînt injectate cu produsul toxic pe cale intraneurală; acest proces nu s-ar putea instala dacă toxina ar fi dusă spre centrii nervoși de sînge sau limfă, deoarece ea ar fi neutralizată de antitoxinele care se găsesc în aceste lichide. Experiența dovedește deci că toxina urmează drumul nervilor spre centrii nervoși. Toxina poate fi vehiculată în organism de către sînge sau limfă, însă ea nu ajunge direct prin aceste lichide în centrii nervoși, ci totdeauna prin intermediul nervilor. Terminațiile nervoase o fixează din sînge și o duc spre centrii nervoși.

Toxina tetanică a fost pusă în evidență inconstant în diverse lichide organice ca: sînge, limfă, lichid cefalorahidian, urină etc. provenind de la animalele bolnave. Ea poate fi găsită în sîngele cailor bolnavi de tetanos. Nielsen și Rowsell (1956) au pus-o în evidență în sîngele unui cîine tetanizat; sîngele a produs tetanizarea șoarecilor în doză de 0,5 ml. Țesutul nervos — creier, măduva spinării, nervi — are o afinitate particulară pentru toxina tetanică și aceasta a fost găsită mai constant în aceste țesuturi ca în altele. Adsorbția toxinei de către țesutul nervos se datorește, după unii autori, lipoizilor cerebrali, iar, după alții, substanțelor proteice. Puterea fixatoare a substanței cenușii celulare este mai mare ca a substanței albe, fibrilare. Complexul constituit se poate însă desface și toxina își reia proprietățile ei inițiale.

Simptomele infecției. Toxina localizată în celulele nervoase din coarnele anterioare ale măduvei produce fenomene de hiperexcitație, care se traduc clinic prin contracții spasmodice ale mușchilor care se găsesc sub dependența celulelor nervoase intoxicate. În raport cu doza, precum și cu specia animală, aceste contracții pot apărea întîi la mușchii capului, pentru a se întinde apoi progresiv spre membrele posterioare, constituind forma clinică cunoscută sub numele de tetanos descendent sau apar la mușchii regiunii injectate, pentru ca progresiv să cuprindă, în cazul cînd cantitatea de toxină a reprezentat cel puțin o doză minimă mortală, întreaga musculatură, constituind tetanosul ascendent.

Tetanosul ascendent se observă la animalele mici de experiență — șoareci, cobai, iepuri, pisici, cîini, maimuțe — în urma inoculării unei cantități de toxină care reprezintă una sau două doze minime letale pentru țesutul și specia considerate. Transportul toxinei spre centrii motori se face, în acest caz, numai prin filetele nervoase locale. Simptomele apar la mușchii regiunii injectate atunci cînd toxina a ajuns la centrii motori respectivi din măduva spinării — după 24—36 de ore de la injecție la cobai — și se limitează aici, producînd un tetanos local cînd doza de toxină injectată este mai mică ca doza minimă letală. Astfel, dacă inocularea s-a făcut în mușchii coapsei, primele contracturi apar la piciorul injectat; la început, acest picior rămîne în timpul mersului puțin în urmă, apoi extensia piciorului se accentuează din ce în ce mai mult. Simptome asemănătoare se pot observa, mai tîrziu, la piciorul opus sau la mușchii care se găsesc pe aceeași latură cu piciorul injectat. Cînd ambele membre posterioare sînt prinse, animalul stă culcat ventral, cu picioarele posterioare în extensie. Cînd intoxicația progresează lateral, animalul stă culcat pe o parte. Intoxicația, dacă doza de toxină injectată a fost suficient de mare, progresează și sfîrșește printr-un tetanos generalizat. Animalul stă nemișcat, respirația se face cu greutate și mucoasele pot fi, din această cauză, cianozate. Moartea survine, de obicei, după 6—7 zile de la apariția simptomelor. Iepurele moare în spasm, în timp ce musculatura cobaiului și a șoarecelui se relaxează înainte de moarte.

Tetanosul descendent se observă la cal, precum și la animalele de experiență injectate subcutan, în regiunile lipsite de musculatură (injecții la laba piciorului sub pielea degetelor etc.), sau intravenos, cu cantități de toxină superioare dozei minime letale. Această formă clinică se datorește trecerii toxinei în circulația generală și adsorbției ei consecutive de către filetele nervoase. În aceste condiții, toate celulele motorii vin, aproximativ, în același timp, în contact cu toxina tetanică și simptomele se întind repede de la mușchii capului la celelalte regiuni corporale. Spasmul muscular progresează de la regiunile anterioare la cele posterioare.

INFECȚIA TETANICĂ NATURALĂ

Patogenie. Tetanosul spontan se observă frecvent la om și cal, mai rar la animalele dotate cu un grad oarecare de rezistență naturală cum sînt porcul, oaia, iepurele, cîinele, pisica, boul etc., și excepțional la păsări. Infecția, atît la om, cît și la animale, este accidentală și ea nu se produce decît atunci cînd o poartă de intrare convenabilă a fost constituită. Așa se explică raritatea relativă a cazurilor de tetanos în raport cu marea răspîndire a germenului în natură.

Sporii de tetanos, pătrunși printr-o poartă de intrare, în țesuturile mortificate ale unui organism, se transformă în forme vegetative, din a căror multiplicare rezultă toxina. Aceasta difuzează în țesuturile vii din jur și dacă între ea și țesutul nervos al organismului respectiv există o afinitate, dacă deci animalul este sensibil față de toxina tetanică, aceasta este dusă spre centrii motori, fie direct prin nervii locali, fie indirect, prin intermediul sîngelui și limfei. În primul caz se produce un tetanos ascendent, în al doilea, un tetanos descendent.

Tetanosul la om

La om, morbiditatea este relativ scăzută în timpuri normale, dar este ridicată în caz de război. Din unele statistici reiese că în cursul primului război mondial din 26 677 de bolnavi 174 au suferit de toxiinfecţia tetanică, deci procentul de morbiditate tetanică a fost de 0,6%. Dar chiar în timp de pace, omul plăteşte un tribut încă destul de serios acestei toxiinfecţii. In unele ţări, mortalitatea datorită tetanosului este mai mare ca aceea consecutivă paraliziei infantile. Astfel, după datele Organizaţiei mondiale de sănătate în S.U.A. au murit în 1952, 36 de oameni de tetanos, în Franţa 577 în 1953, în Egipt 402 în 1952. În ceea ce priveşte receptivitatea omului în raport cu starea sa fiziologică, se constată că oamenii în vîrstă de 15—20 de ani sînt cei mai sensibili. De asemenea, la bărbaţi tetanosul este mai frecvent ca la femei, ceea ce, probabil, este în legătură cu felul de viaţă şi ocaziile de infecţie.

Poarta de intrare a germenului în organism, locul în care el se cuibăreşte şi se multiplică diferă de la un caz la altul. De cele mai multe ori bacilii se multiplică într-o plagă anfractuoasă, care conţine ţesuturi mortificate şi în care, pe lîngă bacilii tetanici, se găsesc şi alte specii bacteriene aerobe sau anaerobe. Flora secundară influenţează evoluţia intoxicaţiei tetanice şi, după unele observaţii, prezenţa colibacilului într-o plagă tetanigenă este de un prognostic grav.

Materialul infecţios. In plăgile tetanigene se găsesc de obicei corpuri străine inerte şi în special bucăţi de stofă antrenate din haine de proiectilul sau corpul contondent care a provocat plaga. Bacilii tetanici pot fi introduşi în plagă o dată cu pămîntul sau cu praful care se găseşte fie pe corpul contondent, fie în haine sau pe piele. Focarul tetanigen, în afară de plăgile accidentale, se poate constitui şi în alte condiţii. Vaccinarea contra vărsatului, injecţiile cu diverse produse biologice (vaccinuri) sau chimice (chinina, morfina, gelatina, etc.) pot crea condiţii favorabile localizării şi multiplicării bacilului. Aceste diverse substanţe creează focare în care ţesuturile şi-au pierdut, în parte sau total, vitalitatea şi în care sporii tetanici, accidental introduşi sau care se găseau în produsul inoculat, se pot multiplica. Plăgile chirurgicale pansate cu material imperfect sterilizat sau cusute cu catgut infectat cu spori tetanici pot fi, la fel, originea intoxicaţiei tetanice. Uterul după naştere sau avort poate constitui sediul unei infecţii tetanice care are, în general, o evoluţie gravă, mortală. La nou-născuţi se citează frecvente infecţii, prin contaminarea cordonului ombilical. Tetanosul nou-născutului are un prognostic grav, cu un procent de mortalitate de peste 90%. Focarele necrotice din ţesuturile profunde şi mai ales cele localizate în pulmon, cariile dentare pot oferi sporilor care vin dinafară sau celor care, eventual, se găsesc în circulaţia generală, condiţii favorabile de dezvoltare. După Hubner şi Freudenberg (1954), în afara perioadelor de război, cazurile cele mai frecvente de tetanos sînt datorite, în Germania, rănirii cu aşchii de lemn şi apoi avorturilor provocate, plăgilor ombilicale şi celor consecutive diverselor intervenţii chirurgicale.

Perioada de incubaţie. Durata perioadei de incubaţie variază de la cîteva zile la cîteva săptămîni şi ea este în raport cu sediul focarului tetanigen, cu activitatea toxinogenetică a acestui focar şi cu stările de imunitate pasivă create prin injecţiile de anatoxină sau antitoxină. Cu cît cantitatea de toxină ce se pune în libertate este mai mare, cu atît ea va ajunge mai repede la centrii nervoşi şi deci perioada de incubaţie va fi mai scurtă. O perioadă scurtă de incubaţie, ca şi apariţia febrei sînt de un prognostic grav. Într-adevăr, după unele date mortalitatea la om este de 90% printre bolnavii la care simptomele apar în prima săptămînă după infecţie şi 52,9% printre cei la care simptomele apar după o incubaţie de 3—4 săptămîni. De asemenea, temperatura de peste 37°C constituie un semn prognostic deosebit de grav.

Simptome. Tetanosul la om, de cele mai multe ori, este de *tip descendent.* În această formă clinică, primele contracţii apar la muşchii masticatori, producîndu-se trismusul (încleştarea maxilarelor) şi apoi la muşchii cefei, pentru a se întinde apoi progresiv la musculatura membrelor superioare, a trunchiului şi membrelor posterioare. Starea de contractare permanentă se agravează în urma unor excitaţii minime, cum sînt un uşor zgomot, atingerea pielii, efortul de a înghiţi sau vorbi etc, şi se manifestă prin crize extrem de dureroase, în care bolnavul se cianozează şi respiraţia devine asfixică. Aceste crize sînt datorite unei hiperexcitabilităţi reflexe, ca o consecinţă a localizării toxinei pe centrii senzitivi. Febra, în cursul bolii, este intermitentă. În cazurile grave de tetanos generalizat, ea este totdeauna ridicată, putînd ajunge la 41—42°C. Bolnavul transpiră foarte mult, are insomnii, retenţie urinară şi constipaţie. Moartea se datoreşte asfixiei în urma spasmului glotei şi muşchilor respiratori ai diafragmei. Procentul de mortalitate, în tetanosul descendent este în medie de 50%. Hubner şi Freudenberg (1954), la un număr de 1 894 de cazuri, urmărite în 94 de clinici germane în perioada de după 1945, găsesc că mortalitatea a fost de 49% (930 de decese).

Tetanosul ascendent este întîlnit mai rar la om; forma localizată se observă la persoanele cu plăgi slab contaminate şi la extremităţile membrelor, la cei vaccinaţi incomplet, ca şi în urma aplicării seroprofilaxiei, la bolnavi care totuşi au o plagă tetanigenă. Toxina, în acest caz, nu poate ajunge la centrii motori decît pe traiectul nervilor, cea trecută în sînge fiind neutralizată de antitoxină.

Diagnosticul clinic al infecţiei se poate face cu uşurinţă. Plaga tetanigenă nu este totdeauna externă şi deschisă. Focarul poate fi uneori ascuns în profunzimea ţesuturilor şi descoperit numai la autopsie.

Tetanosul la cal

La cal, tetanosul este, ca şi la om, de cele mai multe ori, de tip descendent. Infecţia se face, la ambele specii, în condiţii similare. Primul simptom constă din frecventa proiectare a corpului clignotant asupra globului ocular. Acest simptom se poate observa cu 24—36 de ore înaintea oricărei alte manifestări. El este urmat de contractura şi înţepenirea celorlalţi muşchi ai capului, trismus şi apoi progresiv şi descendent ale tuturor muşchilor corpului. Animalul cu tetanos generalizat stă cu gîtul întins, capul nemişcat, nările desfăcute, pupilele dilatate, picioarele ţepene şi desfăcute, toţi muşchii corpului încordaţi, coada în extensie; se mişcă cu greutate; anima-

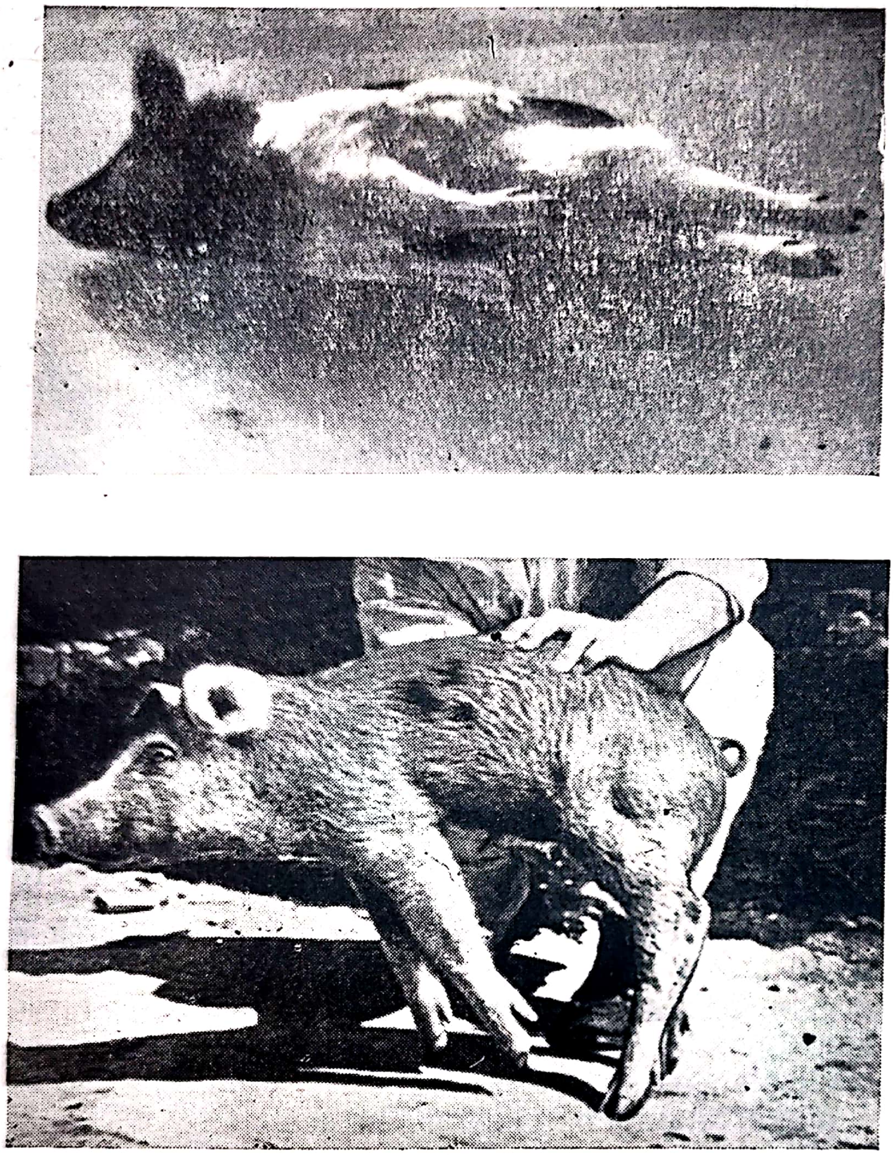


Fig. 125 — Tetanos la porc (după Hagan — *sus* — şi după M. Cristescu — *jos*)

lul are un echilibru instabil ; chiar dacă poate păşi înainte, îi este imposibil să meargă înapoi. Respiraţia este superficială şi accelerată, 60—70 pe minut. Mucoasele, din cauza dispneii, pot fi cianozate ; temperatura este ridicată, 42—43°C. Animalul transpiră abundent, are persistaltismul intestinal redus şi este constipat. Nu se poate hrăni ; dacă ia alimente, acestea rămîn în gură, unde fermentează şi gura degajă, din această cauză, un miros putrid. Reflexele sînt exagerate şi excitaţiile cele mai diverse provoacă animalului crize spasmodice grave. Animalul îşi pierde, în cele din urmă echilibrul şi cade jos ; în această poziţie, boala se agravează foarte repede şi moartea se produce în scurt timp. Ea survine în 80—90% din cazuri şi se datoreşte fie asfixiei, fie complicaţiilor.

Complicaţiile apar în general la aparatul respirator — edem pulmonar sau pneumonii gangrenoase — datorită pătrunderii alimentelor sau medicamentelor în acest organ, ca o consecinţă a dificultăţilor de deglutiţie.

Boala sub forma sa acută durează 5—7 zile.

Tetanosul la cal poate evolua şi sub forme mai puţin grave, subacute sau cronice, cu o durată de 12—15 zile sau mai mult, sau chiar ca un tetanos localizat. Aceasta din urmă formă dă un procent important de vindecări ; boala se poate însă generaliza şi moartea devine atunci foarte probabilă. S-a mai descris şi un tetanos splanchnic de origine intestinală ; focarul tetanigen este intern şi infecţia începe cu colici violente ; spasmul

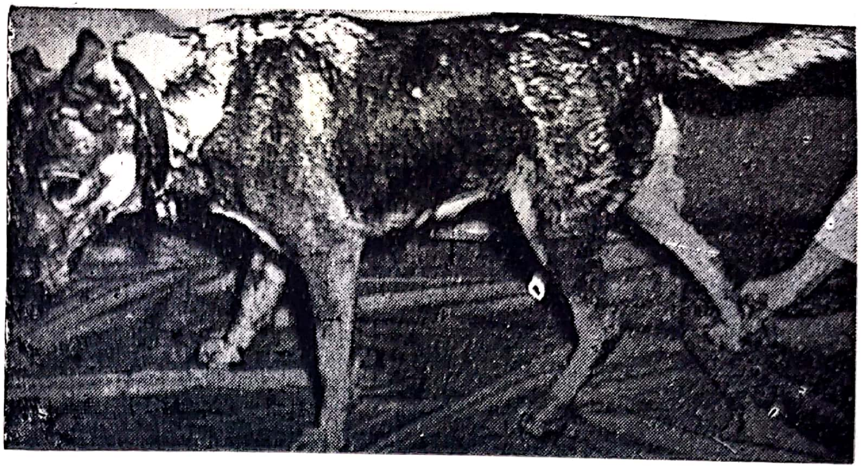


Fig. 126 — Tetanos la cîine (după Nielsen și Rowsell, 1956)

muscular nu întîrzie însă să apară și boala evoluează apoi ca un tetanos descendent.

Tetanosul la bovine, ovine și suine

Tetanosul la bou, oaie și porc este mai puțin frecvent ca la cal ; boala evoluiază, de regulă, ca un tetanos descendent. La vaci și la oi ea apare, frecvent, în urma intervențiilor obstetricale și retenției învelitorilor, iar la porc în urma castrației. Caracterul clinic este variabil. Opisthotonus (coloana vertebrală concavă) se poate observa la oi. Emprosthotonus (spinarea convexă), orthotonus (dreaptă) se constată la bovine. Porcii bolnavi de tetanos au un guițat ascuțit, caracteristic. Oile și vacile tetanizate prezintă un timpanism accentuat. Reflexele, la aceste specii, spre deosebire de cabaline, nu sînt exagerate și, în consecință, nu se produc crize spasmodice. La miel, ca și la vițel, tetanosul este, de regulă, o consecință a unei infecții ombilicale și se manifestă prin spasme musculare și diaree profuză. Mortalitatea este de 95—100%.

Tetanosul la cîine

La cîine, tetanosul se întîlnește relativ rar. Cazuri mai frecvente par a fi înregistrate în Australia, în timp ce în restul lumii ele constituie o raritate. Infecția evoluează, de cele mai multe ori, ca un tetanos localizat și este frecvent o urmare a unei fătări sau unui avort. Generalizarea se produce rar și se caracterizează clinic prin trismus : colțul gurii tras înapoi și gura întredeschisă, dînd impresia că animalul rîde ; ochii sînt închiși, membrele anterioare înțepenite și date în lături, cele posterioare sînt în extensiune, coloana vertebrală dreaptă sau convexă.

Tetanosul la alte specii animale

Infecții tetanice sporadice sînt citate la bivoli, cămilă, pisică și, excepțional de rar, la păsări.

Diagnosticul tetanosului

Diagnosticul clinic nu este greu de făcut ; tetanosul se deosebește de intoxicațiile cu stricnină prin durata sa ; de meningite prin lipsa paraliziilor și prezența trismusului. Tetania de iarbă, care apare în prima săptămînă după scoaterea vacilor de lapte la pășune, se aseamănă și se poate confunda cu tetanosul infecțios. Cercetarea condițiilor de apariție a bolii permite însă un diagnostic diferențial.

Modificările anatomice nu sînt caracteristice şi nu dau indicaţii cu privire la diagnostic. Este de remarcat că la cadavre temperatura rămîne ridicată (41°C) încă cîteva ore după moarte.

La animalele de experienţă, cobai, s-au cercetat leziunile produse de toxină la nivelul sistemului nervos (Lhermitte şi col., 1938). In măduva spinării, în celulele radiculare anterioare, leziunile sînt constant prezente, însă tipul lor variază de la un animal la altul. Uneori se observă o tumefiere enormă a citoplasmei în care corpii tigroizi au fost înlocuiţi prin multiplele granulaţii uşor bazofile; alteori se constată o retracţie şi o hipercromatofilie a protoplasmei, la ale cărei margini se găsesc numeroase vacuole. Adeseori, în aceste cazuri, substanţa cromatofilă este transformată într-o masă granuloasă, străbătută de o reţea vacuolară, nucleul este dispărut sau picnotic; în alte cazuri, celulele radiculare anterioare sînt transformate fie într-o masă spongioasă, pală, din care nucleul a dispărut, fie într-o umbră de celulă. Neurofibrilele sînt profund alterate în celulele care au suferit procese avansate de citoliză.

Nevroglia suferă procese proliferative în jurul celulelor profund alterate, unde constituie noduli reziduali tipici. Pe traiectul nervilor se observă uneori o degenerare valeriană, alteori această leziune este absentă.

Imunitatea antitetanică

Sensibilitatea diverselor specii de animale este extrem de variabilă şi chiar în cadrul aceleiași specii există indivizi care au un grad de imunitate obţinut pe căi naturale sau artificiale.

Imunitatea dobîndită pe căi naturale. Contactul dintre organismele animale şi bacilii tetanici, dată fiind enorma răspîndire a acestora din urmă în natură, este extrem de frecvent. Acest contact poate fi lipsit de orice urmări sau poate duce la instalarea unei intoxicații aparente sau inaparente. Infecția aparentă are urmări grave pentru organism; infecția inaparentă se datorește creării unor condiții care permit o vegetație redusă a bacilului şi deci eliberării unei mici cantităţi de toxină care este incapabilă, mai ales la animalele cu oarecare rezistenţă naturală, să producă o intoxicaţie aparentă, dar care este suficientă să provoace apariţia anticorpilor în sînge şi deci să confere animalului un grad de imunitate. Aceste din urmă condiţii se realizează, mai ales, în traiectul digestiv al rumegătoarelor. Sporii pătrund aici o dată cu alimentele; ei se pot multiplica punînd în libertate o cantitate oarecare de toxină care se absoarbe în organism. Această absorbţie duce la formarea antitoxinelor care au fost puse în evidenţă de diverşi cercetători, mai ales în serul sanguin al bovideelor. Rőmer, în 1908, găseşte antitoxina tetanică în serul sanguin de la 15 bovine din 45 examinate. Ramon și Lemetayer (1933—1935) au făcut o anchetă minuţioasă privitor la prezenţa antitoxinelor în serul sanguin al bovideelor. Autorii au examinat numeroase probe de ser provenind de la bovideele din diverse regiuni ale pămîntului şi au pus în evidenţă prezenţa antitoxinei tetanice într-un procent important de cazuri. Cantitatea de antitoxină este în general redusă putînd atinge, uneori, concentraţia de o unitate internaţională pe 1 ml. Examinînd aceleaşi bovine, la diverse intervale de timp, autorii au constatat diferenţele sensibile, în ceea ce priveşte concentraţia serului în antitoxine de la un examen la altul; în general, aceasta creştea de la un examen la altul. Dima (1936) a constatat prezenţa antitoxinei tetanice în serul sanguin al bovideelor, bivolilor, oilor şi caprelor şi absenţa ei la cal, om, porc şi păsări. Autorul a găsit anticorpii şi la sugarii rumegătoarelor. Antitoxinele, este foarte probabil, se transmit în acest caz prin lapte.

Din punct de vedere al posibilităţilor de imunizare naturală există diferenţe esenţiale între rumegătoare, pe de o parte, şi om şi cal pe de altă parte. Dacă primele se imunizează în cursul unor infecţii oculte, cele din urmă nu devin rezistente nici în cazul cînd au făcut o formă clinică. Fapt curios, toxiemia tetanică nu imunizează nici omul, nici calul şi reinfecţiile la aceste specii sînt posibile. Acest lucru este atît mai curios cu cît ambele specii pot fi solid imunizate prin toxine modificate.

Imunitatea dobîndită pe căi artificiale. Toxina tetanică, modificată prin acţiunea căldurii (Vaillard, 1891) sau antisepticelor — triclorură de iod (Behring şi Kitasato), soluţie Lügol (Roux), formol (Lőwenstein) — sau injectată simultan cu antitoxina tetanică, conferă animalelor sensibile o imunitate solidă. Vaccinarea animalelor de laborator sau a animalelor domestice sensibile şi a omului se realizează în bune condiţii, cu ajutorul anatoxinei tetanice. Lőwenstein, în 1909, injectează în acest scop cobai cu 5 ml de toxină formolată şi supusă, timp de 14 zile, acţiunii razelor emise de o lampă Nernst de 0,25 amperi sau ţinută, după formolare, timp de 3 săptămîni la 37°C. Descombey (1925), prepară anatoxina tetanică formolînd toxina 0,2% şi menţinînd-o apoi 30 de zile la 40°C. Produsul este inofensiv pentru cobai, chiar în doză de 10 ml, iar calul suportă fără nici un accident 800 ml. Animalele injectate cu filtrate dezintoxicate, după procedeul Lőwenstein —Ramon, reacţionează prin producerea de antitoxine.

Transformarea toxinei în anatoxină este, în general, un proces ireversibil. Incercările numeroase făcute cu scopul de a recupera produsul toxic iniţial din anatoxină, au rămas, într-adevăr, negative. Totuşi, Condrea (1933) a observat într-un caz că o anatoxină care în repetate încercări se dovedise lipsită de nocivitate a recăpătat, după o conservare de 3 ani, o parte din proprietăţile sale toxice iniţiale. Asemenea întoarceri par a constitui însă excepţii şi anatoxina este practic un produs lipsit de nocivitate. Ea nu mai are nimic din toxicitatea produsului din care provine.

Valoarea antigenică a unei anatoxine se determină în mod practic prin serofloculare. Se alege, în scopul determinării valorii antigenice a unei anatoxine un ser cu un titru ridicat şi cunoscut în anticorpi floculanţi, deoarece nu toate serurile antitoxice sînt, în acelaşi timp şi în aceeaşi măsură, antitoxice şi floculante. Serurile care floculează repede sînt mai bune şi dau rezultate mai precise ca cele care floculează încet, de aceea primele sînt de preferat, chiar dacă au un titru mai scăzut ca cele din urmă.

Din punct de vedere practic, titrarea anatoxinei in vitro — serofloculare — sau in vivo — pe animale de experienţă — este absolut necesară, căci numai astfel se poate aprecia valoarea sa vaccinantă. Titrul toxic al toxinei din care provine anatoxina nu constituie o garanţie că anatoxina este activă. Se constată, într-adevăr, că uneori toxine foarte active din punct de vedere al puterii lor patogene dau anatoxine slabe, și, invers, că toxine mai puțin active dau un produs vaccinant de o mai mare valoare. Toxinele bogate în antigeni floculanți pot pierde uneori această proprietate în timpul inactivării. In asemenea cazuri, produșii toxici în loc să se trasforme în anatoxine se degradează, pierzînd proprietățile imunizante, ceea ce explică faptul că toxine foarte active pot da anatoxine de valoare redusă sau nulă.

Anatoxina rezistă la 55—56°C; ea își conservă un timp îndelungat la întuneric și la rece valoarea sa imunizantă. Sîrmon și Marica (1956) au dovedit că anatoxina în amestec cu Cl_2Ca păstrează aceeași valoare imunizantă după o conservare de 7 ani la rece și la întuneric.

Valoarea vaccinantă a unei bune anatoxine este foarte mare. Un cobai injectat cu 0,1 ml de anatoxină rezistă 60 de zile mai tîrziu față de 10 doze minime mortale de toxină.

O anatoxină, pentru a putea fi folosită în imunizarea animalelor, trebuie să îndeplinească conform normelor în vigoare în R.P.R., următoarele condiții:

a) să aibă un titru floculant de cel puțin 15—20 unități floculante pe 1 ml;

b) să nu fie nocivă și să confere animalelor de experiență o imunitate solidă.

Determinarea titrului floculant se face după metoda pe care o descriem mai jos.

Pentru a determina inocuitatea și valoarea imunizantă a unei toxine, se procedează în felul următor: se inoculează cel puțin 6 cobai, în greutate de 300—350 g fiecare, cu cîte 5 ml de anatoxină; animalele astfel inoculate nu trebuie să prezinte nici o tulburare a stării generale, iar după 30 de zile cel puțin 50% dintre ele să suporte, fără nici o manifestare de intoxicație tetanică, 100 d.l.m. de toxină; 50% dintre acești cobai pot prezenta accidente tetanice locale.

Istrati și colaboratorii au pus la punct o metodă precisă de apreciere a valorii imunizante a unei anatoxine tetanice pe cobai (1940) sau pe șoareci (1956).

Anatoxina se folosește în vaccinarea activă a cailor. In acest scop se injectează fiecărui animal, la 1 lună interval, cîte 10—20 ml de anatoxină. O singură injecție este puțin eficace chiar dacă se injectează o doză masivă, 600—800 ml. S-a arătat că pe măsură ce intervalul între cele două injecții crește, în aceeași măsură crește și intensitatea imunității (Condrea, 1930). Se observă, de asemenea, că valoarea imunizantă a anatoxinei crește foarte mult dacă se adaugă produsului unele substanțe adjuvante, cum sînt: tapiocă 1 g pentru 100 ml de anatoxină, clorură de calciu 0,5%, hidroxid de aluminiu 33% sau dacă este precipitată cu alaun de potasiu. Astfel, caii injectați în repetate rînduri numai cu anatoxină dau, de regulă, un ser care conține 5—10 unități antitoxice pe 1 ml, în timp ce animale injectate cu aceeași cantitate de anatoxină, însă în amestec, de exemplu, cu tapiocă, dau un ser care poate conține, în același volum, 100—1 000 unități antitoxice. Procesul inflamator și afluxul leucocitar provocat, la locul injecției amestecului, de către tapiocă sau alt produs similar, favorizează producţia de antitoxine. Totuşi, nu se constată o relaţie directă între reacţia locală şi producţia de anticorpi, ceea ce denotă că aceste substanţe măresc posibilităţile de reacţie a întregului organism. Intr-adevăr, aşa cum a arătat Şoituz (1931), injecţia de anatoxină cu produs adjuvant este urmată la cal de leucocitoză (granulocitoză) şi producţia maximă de antitoxine coincide cu numărul cel mai ridicat de leucocite în sînge. Produsele adjuvante ridică valoarea imunogenă a anatoxinei tetanice şi pentru animalele de experienţă. Istrati şi colaboratorii (1956) constată că anatoxina adsorbită pe hidroxid de aluminiu sau precipitată cu alaun de potasiu imunizează bine şi solid şoarecii, în timp ce aceeaşi anatoxină fără adjuvant este practic lipsită de activitatea imunizantă, pentru această specie. După autori, prin adsorbţie sau precipitare, valoarea imunizantă a unei anatoxine creşte, în medie, de 100 de ori, pentru şoarece sau cobai. Plecînd de la anatoxina care conţinea 6 unităţi protectoare pe 1 ml ajung, prin adsorbţie, la produse care conţin 212—1 085 unităţi protectoare de cobai pe 1 ml.

Vaccinarea cu anatoxină se aplică la caii de orice vîrstă. S-a arătat că anatoxina produce la mînjii de 6 săptămîni o imunitate egală cu aceea care ia naştere, în condiţii asemănătoare, la animalele adulte.

Imunitatea animalelor vaccinate prin două injecţii se întreţine prin aşa- numitele injecţii de rapel, care se practică o singură dată pe an sau chiar o dată la 2 ani. Injecţia de rapel se face cu 10—20 ml de anatoxină. Iepele vacinate în cursul gestaţiei sînt ferite de o eventuală infecţie post-partum, iar mînzul de o infecţie prin cordonul ombilical, şi de aceea vaccinarea lor este recomandabilă.

Animalele vaccinate şi care se rănesc, prezentînd plăgi anfractuoase şi murdărite cu pămînt, se vor injecta de îndată cu o doză de anatoxină. Aceasta provoacă foarte repede formarea anticorpilor, care pun la adăpost animalul faţă de o eventuală intoxicaţie tetanică.

Imunitatea conferită calului, prin două injecţii de anatoxină tetanică, practicate la un interval de 3—4 săptămîni, este foarte solidă, ceea ce reiese şi din cercetarea cantităţii de antitoxină prezentă în umorile animalelor respective. Astfel, numărul unităţilor de antitoxină conţinută pe unitatea de volum, de serul cailor injectaţi în două reprize, cu anatoxină plus clorură de calciu, este în medie de 2—20 unităţi antitoxice pe 1 ml. Serul unui cal care conţine 20 unităţi antitoxice pe 1 ml neutralizează la cobai, 20 000 unităţi toxice, ceea ce depăşeşte cu mult necesităţile normale de protecţie; se consideră că un cal, al cărui ser neutralizează în volum de 1 ml. o singură doză minimă mortală de toxină (pentru cobai), este la adăpost de infecţia tetanică.

Anatoxina se recomandă şi se aplică de asemenea în imunizarea activă a oamenilor care prin ocupaţiile lor sînt în mod particular expuşi infecţiei tetanice. Se foloseşte, în acest scop, o anatoxină a cărei inocuitate este controlată în repetate rînduri şi a cărei valoare imunizantă este ridicată. In Germania, de exemplu, se foloseşte o anatoxină care conţine cel puţin 30 unităţi protectoare pentru cobai — titrarea făcîndu-se după metoda lui Istrati şi colaboratorii (1940). Anatoxina se inoculează omului în trei reprize: prima injecţie se face cu 1 ml, a doua, 3 săptămîni mai tîrziu, cu

1,5 ml şi a treia după alte 3 săptămîni, cu aceeaşi cantitate. Valabilitatea metodei a fost controlată şi confirmată de numeroşi cercetători. In cursul războiului 1939—1945, armatele care au folosit anatoxina tetanică pentru vaccinarea oamenilor şi cailor au avut foarte puţin de suferit din cauza acestei toxiemii. Intr-adevăr, tetanosul, printre oamenii şi animalele vaccinate, a fost aproape inexistent. Imunizarea activă, prin anatoxină tetanică, prezintă, în raport cu seropreventia, importante avantaje. Ea este în raport cu imunitatea conferită prin ser, mai solidă şi mai durabilă şi scuteşte organismul de reacţii serice.

Serul antitetanic

Behring şi Kitasato observă în 1890 că iepurii inoculaţi cu culturi de bacili ai tetanosului şi injectaţi apoi, în scop de a inactiva toxina, în repetate rînduri, cu triclorură de iod, în acelaşi loc, rezistau unei infecţii mortale pentru martori şi, după un interval de 15—25 de zile, suportau o cantitate mare de cultură tetanică. În plus, serul iepurilor astfel trataţi avea proprietăţi neutralizante faţă de toxina tetanică, atît in vivo, cît şi in vitro. Aceste observaţii au constituit baza experimentală, care a dus la prepararea serului antitetanic, adică a antitoxinei tetanice. Descoperirea, de către Ramon (1924—1925), a anatoxinei tetanice şi apoi a rolului jucat de substanţele adjuvante, cum sînt tapioca, clorura de calciu, lanolina etc., în producţia antitoxinelor, a scurtat durata hiperimunizării şi a permis, în acelaşi timp, prepararea unor seruri cu un titru antitoxic extrem de ridicat. Se poate astfel obţine, în 3 săptămîni, de la caii care au fost vaccinaţi cu anatoxina tetanică cu cîţiva ani mai înainte de a începe hiperimunizarea, un ser care conţine între 600 şi 7 500 unităţi pe 1 ml.

Serul antitetanic se prepară numai pe cal; ierbivorele (Vassian 1894) dau în general seruri cu un conţinut redus în antitoxine. Oile, de exemplu, în urma unei hiperimunizări prelungite, conţin, în serul sanguin, în medie, 200 U.A. pe 1 ml. Bîlbîie şi colaboratorii (1955), folosind pentru imunizare anatoxina, cu fosfat de aluminiu ca adjuvant, obţin pe oi un ser cu 600—700 U.A. pe 1 ml. In comparaţie cu serul antitetanic furnizat de cal, titrul este totuşi destul de redus.

Schema de imunizare a cailor, în vederea obţinerii unui ser activ, variază în amănunt, de la un institut la altul (Condrea, 1930, Badenski, 1930, Poenaru, 1956 etc.).

Titrarea serului antitetanic se face in vitro — metoda floculării — sau in vivo, pe şoareci sau cobai.

Metoda de titrare in vivo este comparativă, şi anume se compară capacitatea neutralizantă faţă de o toxină cunoscută şi stabilă a serului proaspăt recoltat, în raport cu un ser etalon. Pentru a titra un ser antitetanic, sînt necesare deci un ser etalon şi o toxină stabilă. Serurile etalon se conservă sub formă uscată, timp îndelungat, fără nici o variaţie a valorii lor neutralizante. Toxina folosită trebuie să fie stabilizată, ceea ce se obţine fie prin uscare şi păstrare la adăpost de lumină, aer şi umiditate, fie amestecînd toxina lichidă, cu un volum egal de glicerină, şi păstrînd-o apoi 2 luni în gheţar. Toxina stabilizată prin amestec cu glicerină se păstrează tot timpul la gheţar (4—6°C) şi ea conservă, în aceste condiţii, timp îndelungat, aceeaşi activitate.

Conţinutul unei toxine în principii activi se determină pe animale de experienţă. Behring a întrebuinţat în acest scop şoarecele, şi a definit o serie de noţiuni utile în procesul de determinare exactă a valorii toxice a unui produs. Astfel, el a precizat că, de exemplu, cantitatea de toxină capabilă să omoare un şoarece de 16 g constituie o doză minimă letală (d.l.m.). Mai departe, Behring consideră că o unitate toxică este reprezentată prin volumul de toxină capabil să omoare 40 000 000 g de şoareci sau 2 500 000 şoareci de 16 g. O unitate toxică reprezintă deci 2 500 000 d.l.m., iar o unitate antitoxică cantitatea de ser necesară neutralizării unei unităţi toxice. Consiliul de igienă al Ligii naţiunilor a adoptat ca unitate antitoxică internaţională cantitatea de ser imun capabilă să neutralizeze 20 000 d.l.m. de şoarece.

Metodele de titrare a antitoxinei tetanice variază. Condrea de exemplu, recomandă un procedeu care se inspiră din principiile stabilite în această materie de Ehrlich, şi care, deşi necesită un număr relativ redus de animale, dă rezultate precise. Dăm tehnica recomandată de Condrea.

Toxina standard folosită este constituită dintr-un filtrat vechi, stabilizat; serul etalon provine de la un institut internaţional. În raport cu serul etalon, într-o primă fază se stabileşte, pentru toxina folosită, valoarea lui L + (limes tod), adică volumul minim de toxină, care în amestec cu o unitate antitoxică (valoarea precizată şi cunoscută pentru serul etalon), omoară şoarecele de 15 g în 3 zile. În acest scop, în şase pahare se pune cîte 1 ml din serul etalon, diluat după indicaţiile date pentru acest ser, în aşa fel încît 1 ml să conţină o unitate antitoxică. Se adaugă apoi, în fiecare pahar, toxina, în cantităţi care variază în jurul dozei presupuse active, de exemplu: 1,3; 1,4; 1,5; 1,6; 1,7; 1,8 etc. Volumul, în fiecare pahar, se completează cu apă fiziologică pînă la 4 ml şi, după 30 de minute de contact la temperatura camerei şi la adăpost de lumină se injectează subcutan, din fiecare pahar, la şoareci, cîte 0,4, adică 1/10 din cantitatea totală. Observaţia animalelor durează 6 zile şi L+ este considerată cantitatea de toxină care în amestec cu o unitate antitoxică, omoară şoarecele în 3 zile.

O dată această cifră determinată, se poate proceda la titrarea serului cu valoarea necunoscută. În acest scop se fac din serul de examinat diluţii în jurul titrului presupus al acestui ser, de exemplu 1/300, 1/400, 1/500 etc., dacă bănuim că serul conţine 400—500 unităţi antitoxice pe 1 ml. Din fiecare diluţie de ser se pune, în cîte un pahar, cîte 1 ml. Se adaugă apoi cantitatea de toxină care reprezintă L+, se completează volumul pînă la 4 ml şi apoi se inoculează, din fiecare amestec, cîte 0,4 ml subcutan la şoarece; animalul care moare în 3 zile, cu tetanos progresiv generalizat, a fost inoculat cu L+ în amestec cu o unitate de antitoxină, deci în 1 ml din diluţia de ser din paharul respectiv, se găsea o unitate de antitoxină. Dacă amestecul din paharul în care serul a fost diluat 1/400 a omorît şoarecii în 3 zile, înseamnă că 1/400 din serul de examinat conţine o unitate de antitoxină şi deci 1 ml din acest ser conţine 400 unităţi pe 1 ml.

Cantităţile reduse de antitoxină, sub 1/4 000 dintr-o unitate antitoxică, astfel cum se găsesc în serul animalelor cu imunitate naturală, ocultă, nu pot fi descoperite prin metodele de titrare folosite la determinarea valorii serurilor hiperimune, deoarece antitoxinele, în aceste cantităţi, nu pot influenţa volumul de toxină reprezentat prin L+. Antitoxina, chiar în titruri foarte mici, cuprinse între 1/4 000 şi 1/30 000, influenţează însă procesul morbid provocat de o doză minimă tetanizantă de toxină şi, pentru a descoperi urmele de antitoxină dintr-un ser, se recurge la o asemenea dozare.

Seroflocularea poate da indicaţii privind conţinutul în antitoxine a unui ser. Reacţia se face folosind o toxină sau anatoxină la care s-a determinat, cu ajutorul unui ser cunoscut, numărul de unităţi floculante pe 1 ml. Anatoxina o dată titrată se conservă la gheţar, şi poate fi folosită, cel puţin 6 luni pentru determinarea conţinutului în anticorpi floculanţi ai unui ser.

În vederea executării reacţiei, toxina sau anatoxina se diluează înainte de întrebuinţare în aşa măsură, încît diluţia să conţină 100 unităţi floculante pe 1 ml. Diluţia se face cu apă fiziologică, tamponată la pH=7,6. Produsul astfel diluat se repartizează într-o serie de tuburi de reacţie, cîte 1 ml în fiecare tub.

Serul de titrat se diluează cu apă fiziologică în proporţie de 1/5, 1/10 şi 1/20. Din fiecare din aceste diluţii se repartizează doze crescînde în cîte o grupă de tuburi. În prima grupă se distribuie diluţia 1/5, respectiv în doze de 0,2, 0,3 0,4—1,5, în a doua grupă, în acelaşi fel, diluţia 1/20. Volumul se completează, în toate tuburile, la 2,5 ml cu apă fiziologică şi apoi tuburile sînt puse la o baie de apă avînd temperatura de 48—50°C. Citirea se face cît mai frecvent, pentru a surprinde tubul în care apare întîi flocularea şi în care există o echivalenţă între anticorp şi antigen, adică numărul unităţilor floculante din anatoxină corespunde unui număr egal de unităţi antitoxice din ser. Dacă, de exemplu, prima floculare a apărut în tubul care conţine 1 ml de ser diluat 1/10, înseamnă că 0,1 ml de ser (1 ml din 1/10=0,1 ml) conţine 100 unităţi, iar 1 ml (volumul pentru care se dă valoarea antitoxică a unui ser) conţine 1 000 unităţi.

Datele obţinute prin titrări in vitro, prin floculare, este bine să fie controlate prin titrări in vivo, pe şoareci sau cobai. Seroflocularea ne dă indicaţii aproximative şi ne scuteşte de a face prea multe diluţii în vederea titrării in vivo. Datele obţinute in vivo variază, de regulă, în jurul cifrei obţinute prin serofloculare.

Folosind aceeaşi tehnică şi dispunînd de un ser floculant cu titru cunoscut se poate determina conţinutul în unităţi floculante al unei toxine sau anatoxine necunoscute.

Procedeul de titrare, în acest caz, este următorul: în 10 tuburi de reacţie (diametrul 6 mm) se distribuie cantităţi crescînde din serul cunoscut şi diluat, în aşa fel încît să conţină 100 unităţi floculante pe 1 ml; se completează, în fiecare tub, volumul la 1 ml cu apă fiziologică tamponată la pH=7,6; în fiecare tub se pun apoi cîte 2 ml din toxina sau anatoxina de titrat; tuburile se pun la baie (48—50°C); citirea se face frecvent, pentru a surprinde tubul în care flocularea apare întîi; calculul — o dată acest tub identificat — se face astfel: dacă flocularea a apărut în tubul care conține 0,5 ml de ser, înseamnă că toxina conține $\frac{50}{2}$ adică 25 unități floculante pe 1 ml; 50 reprezintă numărul unităților floculante din 0,5 ml de ser, iar 2 reprezintă numărul de mililitri de toxină prezentă în amestec.

Seroprevenția și seroterapia antitetanică

Serul antitetanic a adus reale servicii în tratamentul tetanosului declarat, dar, mai ales, în prevenirea acestei toxiinfecții.

Valoarea preventivă a serului este mult mai mare ca cea curativă, deoarece antitoxinele din ser neutralizează prompt, in vivo, toxina liberă care ia naștere într-un focar tetanigen și care se răspîndește în organism prin sînge sau limfă, dar nu are aceeași acțiune asupra toxinei deja fixate pe țesutul nervos.

Seroprevenția antitetanică este cu atît mai eficace cu cît injecția se face mai repede după infecție și cu o doză mai mare de ser; doza preventivă pentru om este în medie de 3 000 U. I. Injecția se repetă din 7 în 7 zile, pînă ce plaga murdărită cu pămînt și presupusă infectată cu bacili tetanici se vindecă. Toaleta plăgilor și înlăturarea condițiilor care permit o abundentă vegetație a bacililor trebuie să însoțească injecția cu ser.

La animale, serul antitetanic are o și mai largă întrebuințare ca la om; pe lîngă tratamentul tuturor animalelor care prezintă plăgi, înțepături etc., injecția cu ser antitetanic însoțește, la majoritatea animalelor, orice act operator, deoarece plăgile chirurgicale, chiar dacă sînt executate în bune condiții de asepsie, pot constitui, după operație, datorită felului de viață a animalelor, o poartă de intrare pentru sporii bacilului tetanic. Primele încercări de prevenție a tetanosului la animale, cu ajutorul antitoxinei, au fost făcute de Nocard, în 1897; autorul constată că printre 2 300 de animale operate și serumizate nu s-a ivit decît un singur caz de tetanos și acela la un animal la care injecția s-a făcut 4 zile după operație; în schimb, printre animalele operate și neinjectate cu ser au apărut 259 de cazuri de tetanos.

Doza de ser necesară prevenției unei infecții tetanice variază în raport cu greutatea animalelor. Ea este pentru cal și alte animale de talie și greutate apropiate de 10 000—20 000 U. I. și de 3 000—6 000 U. I. pentru cele de talie mică — oi, porci etc. Administrarea serului trebuie să fie însoțită de înlăturarea prin mijloace chirurgicale a focarului tetanigen. Injecțiile cu ser se repetă din 10 în 10 zile, pînă ce plaga se vindecă.

Valoarea terapeutică a serului antitetanic la animale este redusă. Această lipsă de eficacitate terapeutică a unui produs dotat cu o enormă putere neutralizantă față de toxina tetanică se datorește după unii autori incapacității antitoxinei de a desface complexul constituit între substanța nervoasă și toxină, iar după alții faptului că antitoxina nu pătrunde în centrii nervoși. Diverși autori au arătat că chiar la animalele hiperimune țesutul cerebral își păstrează afinitatea și sensibilitatea față de toxina tetanică și că injecțiile intracerebrale provoacă la aceste animale un tetanos cerebral. Perfecționarea metodelor de tratament seric și în special injecțiile intrarahidiene ale unor seruri cu un titru antitoxic ridicat au redus procentul mortalităţii umane în urma infecţiei tetanice. Injecţiile intrarahidiene pun în contact direct antitoxina cu centrii nervoşi intoxicaţi uşurînd desfacerea toxinei şi neutralizarea ei ; acest contact nu se realizează în cazul injecţiilor intravenoase din cauza impermeabilităţii capilarelor sanguine pentru antitoxine şi în general pentru substanţele coloidale. Această impermeabilitate este mai accentuată la nivelul encefalului. La om, mai ales în cazurile grave, serul se injectează atît intrarahidian, cît şi subcutan sau intramuscular. Se realizează astfel o îmbibare a tuturor ţesuturilor cu anticorpi.

Seroterapia tetanică la cal, animal la care se aplică pe o scară mai întinsă, dă rezultate puţin satisfăcătoare. La clinica de boli contagioase de la Facultatea de medicină veterinară din Bucureşti (Bîrsan, 1938) s-au tratat simptomatic şi cu ser, în intervalul 1932—1938, 149 de cai ; mortalitatea, printre aceste animale, a fost de 67,79%. Diversele căi de administrare a serului — subcutan, intravenos, intrarahidian, intracerebral etc. — nu par a influenţa simţitor evoluţia bolii la această specie. Rezultatele depind într-o mare măsură de starea clinică a animalului în momentul începerii tratamentului. Bîrsan (1938) constată în această privinţă că prin seroterapie a obţinut un procent de vindecări de 40,9% la caii cu trismus incomplet şi de 0% la cei cu trismus complet. În general, injectarea serului îndată după apariţia primului simptom şi folosirea dozelor masive — 20 000—30 000 unităţi — dau rezultatele cele mai bune posibile. Se împiedică, printr-un asemenea procedeu, intoxicaţia unor noi centri nervoşi, fără a reuşi totdeauna să se dezintoxice centrii în care toxina s-a fixat.

Se afirmă că s-ar putea înlesni dezintoxicarea centrilor nervoşi folosind adrenalina. Tratamentul constă din administrarea întîi a unei doze masive de antitoxină pentru a înlătura toxina liberă, apoi se injectează doze cît mai mari de adrenalină — atît cît suportă specia animalului tratat. 1 ml dintr-o soluţie 1‰ pentru miel, 10 ml, din aceeaşi soluţie pentru cal (Marie, 1914).

Alţi autori folosesc doze mai mici, 2—3 ml dintr-o soluţie 0,1% pentru cal. Injecţiile cu adrenalină se repetă zilnic pînă la vindecarea animalului.

Ramon (1938) substituie, în tratamentul tetanosului, seroterapia prin seroanatoxiterapia, care dă rezultate mai bune atît în tetanosul omului, cît şi al calului. Practica pare să confirme cercetările experimentale, metoda aplicîndu-se în diferite ţări cu rezultate bune. Ea constă din injectarea întîi a unei doze masive de ser pe cale intravenoasă sau intramusculară şi apoi a unei doze de 20 ml de anatoxină. Se injectează, de exemplu, unui cal bolnav 150 000—200 000 unităţi de antitoxină şi apoi imediat, sub piele, 20 ml de anatoxină cu tapiocă 1%. Injecţiile cu anatoxină se repetă de trei ori, la 4—5 zile interval ; 6 luni după vindecare, animalul este bine să fie injectat încă o dată cu 20 ml de anatoxină.

În clinicile veterinare, caii bolnavi de tetanos se tratează simptomatic şi cu ser antitoxic. În prealabil, plaga tetanigenă, dacă poate fi descoperită, este curăţită, dezinfectată şi eventual cauterizată. Animalul este pus apoi într-un loc liniştit, ferit de prea multă lumină, zgomot sau alte cauze care îi pot provoca crize spasmodice. Animalele căzute se ridică şi se pun în suspensor, deoarece la cele culcate boala se agravează foarte repede; se procedează la fel cu animalele la care pierderea echilibrului este iminentă. Bolnavul trebuie hrănit, pentru a evita astfel epuizarea organismului. Se recurge în acest scop la alimente lichide (soluţii zaharate, ouă bătute în vin) atunci cînd masticaţia şi deglutiţia sînt imposibile. Injecţiile intravenoase cu glucoză, soluţii 50%, cîte 100 ml pe zi, influenţează favorabil evoluţia bolii. Ele hrănesc animalul şi-l dezintoxică. Experimental, Condrea şi Poenaru (1937) au dovedit că soluţiile de glucoză atenuează activitatea nocivă a toxinei tetanice, spre deosebire de soluţiile de clorură de sodiu care o exagerează. Aceste fenomene, nu ar fi, după autori, în legătură cu o acţiune directă a substanţelor respective asupra toxinei, ci ele acţionează asupra organismului animal. Clorura de sodiu, de exemplu, ar favoriza intoxicaţia prin aceea că ea înlesneşte difuziunea şi fixarea toxinei pe sistemul nervos, în timp ce glucoza are o acţiune contrarie. În tratamentul tetanosului la cal, serul se poate asocia cu unele narcotice ca eterul (30—50 ml zilnic, pe cale rectală), cloral hidratul 30—50 g pe zi în soluţie de 10%, morfină (0,2—0,5 g pe zi), atropină (0,02—0,08 g pe zi) etc. Sulfatul de magneziu a fost de asemenea folosit ca sedativ în tetanos şi recomandat de unii autori. Această substanţă se injectează pe cale intravenoasă. Stock, citat în Hutyra-Marek (1945), recomandă inocularea soluţiilor de sulfat de magneziu pe cale subcutană sau intravenoasă. Dozele folosite variază în limite largi de la un autor la altul. Unii recomandă doze masive, 2 400 ml dintr-o soluţie 25% sau 1 500 ml dintr-o soluţie 40%, alţii obţin rezultate bune cu doze reduse, 10—25 ml dintr-o soluţie 10% şi afirmă chiar că dozele mari nu par a fi aşa de eficace; în plus, ele nu sînt inofensive. Soluţiile de sulfat de magneziu injectate subcutan produc necroze. S-a recomandat, de asemenea, în tratamentul tetanosului, asocierea urotropinei (10—20 ml dintr-o soluţie 4%) cu serul antitoxic; urotropina produce o vasodilataţie, ceea ce ar permite difuziunea antitoxinelor din vasele sanguine în ţesuturi.

Nyiri, plecînd de la prespunerea, care după Adameşteanu şi Nicolau (1945), nu corespunde realităţii, că în tetanos se observă o scădere apreciabilă a rezervei alcaline, foloseşte ca tratament injecţiile intravenoase de bicarbonat de sodiu 7% ; doza zilnică pentru un cal bolnav poate fi de 1 000 ml. Curara a dat unele rezultate în tratamentul tetanosului experimental la iepure şi cîine (Micuţ, 1937).

Sulfamidele nu dau rezultate în tratamentul intoxicaţiei tetanice. Mesudinul, după unii cercetători, este activ asupra bacililor tetanici şi favorizează distrugerea dintr-o plagă tetanigenă; asupra toxinei tetanice preparatul este lipsit de orice activitate. Penicilina, dată fiind acţiunea ei bacteriostatică asupra bacilului tetanosului, precum şi asupra florei secundare din plaga tetanigenă, a fost recomandată în tratamentul bolii.

Gratzel (1955) tratează 200 cai bolnavi numai cu penicilină, obţinînd 80 (40%) vindecări; din 17 cai trataţi cu penicilină şi relaxante (miocaină sau relaxan) s-au vindecat 7 (41,1%). De asemenea, tratînd 11 cîini cu tetanos generalizat, cu penicilină sau şi cu penicilină şi relaxante, autorul obţine 6 (54,5%) vindecări.

Tratamentul tetanosului la animale şi om este o problemă încă deschisă, căci, cu toate încercările făcute pînă în prezent, procentul de mortalitate este încă destul de ridicat, în medie 50%.

BIBLIOGRAFIE

ADAMAŞTEANU I. şi NICOLAU A. — Modificarea echilibrului acido-bazic în tetanosul experimental şi clinic la cal şi cîine. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 1945, 56 p. 384.

BADENSKI GH. — Studiu comparativ asupra metodelor de imunizare antitoxică. *Teză la Facultatea de medicină*, Bucureşti, 1930.

BEHRING E. — Das Tetanusheilserum. Leipzig, 1892.

BEHRING E. — Titrarea antitoxinei tetanice şi întrebuinţarea sa în practica medicală umană şi veterinară. *D. Med. Wschr.*, 1900, nr. 2.

BEHRING E. şi RANSON — *Dtsch. Med. Wschr.*, 1898, 24, p. 181.

BESREDKA A. — Asupra fixării toxinei tetanice de către creier. *Ann. Inst. Pasteur,* 1903, 17, p. 138.

BILBIIE C. şi col. — Contribuţiuni la stabilirea unei metode raţionale pentru prepararea serului antitetanic pe ovine. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice ale Institutului „Cantacuzino"*, Bucureşti, 1955, p. 219.

BIRSAN E. — Contribuţiuni la tratamentul tetanosului. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1938.

BORCILĂ I. — Imunizarea cobaiului cu anatoxină tetanică; încercări comparative asupra diferitelor metode de inoculare a antigenului. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 119, p. 915.

CARLE şi RATTONE — Studii experimentale asupra etiologiei tetanosului. Torino, 1884.

COLEMAN G. E. şi GUNNISON J. B. — Tipuri serologice la Cl. tetani. *J. inf. Dis.*, 1928, 48, p. 185.

CONDREA P. — Noua metodă pentru obţinerea rapidă a antitoxinei tetanice cu titrul ridicat. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, 103, p 1042.

CONDREA P. — Cercetări asupra morfologiei bacilului tetanic. *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1929, 2, p. 39 şi 1930, 3, p. 365.

CONDREA P. şi POENARU E. — Influenţa diluţiilor asupra toxicităţii toxinei tetanice. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 112, p. 1482.

CONDREA P. şi POENARU E. — Cercetări asupra naturii toxinei tetanice. Influenţa peptonei asupra toxicităţii toxinei tetanice. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 112, p. 1484.

CONDREA P. — Toxicitatea specifică a anatoxinei tetanice. *C. R. Soc. Biol.*, 1933. p. 1499.

CONDREA P. şi ILIESCU M. — Fenomene de sensibilizare anafilactică obţinute prin inoculări repetate de anatoxină tetanică şi difterică. *Arch. Roum. de Path. Expér.*, 1943, 13, p. 179.

CONDREA P. şi POENARU E. — Asupra erorilor posibile în cursul titrărilor de anatoxină tetanică şi mijloacele de a le evita. *Arch. Roum. de Path. Expér.*. 1943, 13, p. 197.

COURMONT J. şi DOYON M. — *C. R. Soc. Biol.*, 1893, p. 841.

DAVIES R. J. şi col. — Sensibilitatea porumbelului faţă de toxina tetanică. *J. Path. Bact.*, 1955, 69, p. 295.

DESCOMBEY P. — Vaccinarea calului cu anatoxină tetanică. *Ann. Inst Pasteur,* 1925, 39, p. 485.

DIMA GH. — Imunitatea ocultă în tetanos la om şi la animale. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1936.

ELEK P., KÖVES J. şi SZÉLYES L. — Imunizarea antitetanică activă. *Acta Vet. Hung.,* 1951, 1, p. 353.

FABER KNUD — Patogenia tetanosului. *Berliner Klinische Wochenschrift,* 1890, p. 717.

FILDES P. — Aglutinarea şi toxicitatea la bacilul tetanosului. *Brit. J. Exper. Path.,* 1925, 6, p. 91.

GALEA M. şi FALCHETTI E. — Bacilul tuberculos avirulent şi tetanosul, *C. R. Soc. Biol.,* 1931, 108, p. 692.

GRATZEL E. — Noi metode în tratamentul tetanosului la cal şi cîine. *W. tierärzt. Monatschr.,* 1955, 42, p. 815.

HUBNER H. şi FREUDENBERG K. — Cu privire la vaccinarea antitetanică. Statistica cazurilor de tetanos în Germania. *Rev. d'Immunologie,* Paris, 1954, 18, p. 344.

ISTRATI G. şi col. — Cercetări comparative asupra imunităţii active antitetanice. *Arch. Rom. Epid. Microbiol.,* 1956, 1, p. 290 şi p. 305.

ISTRATI G., KIKSCH L. şi PRIGGE R. — Cercetări experimentale asupra imunităţii antitetanice. *Zbl. f. Bakt.,* 1940, 145, p. 19 şi p. 233.

KEMÉNY L. — Intrebuinţarea probei de floculare în tetanos. *Acta, Vet. Hung.,* 1951, 1, p. 163

KITASATO — Asupra bacilului tetanic. *Z. f. Hyg.,* 1889, 7, p. 226.

LHERMITTE şi col. — Leziunile sistemului nervos în intoxicaţia experimentală prin otrava tetanică. *C. R. Soc. Biol.,* 1938, 128, p. 296.

MARIE A. C. — Activarea toxinei tetanice. *Ann. Inst. Pasteur.* 1914. 28, p. 1.

MECINIKOFF E — *Ann. Inst. Pasteur* 1898, 22, p. 81.

MICUŢ I. — Acţiunea curarei în tetanosul experimental la cîini şi iepure. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1937.

NICOLAIER — Asupra tetanosului infecţios. *Deut. Med. Wochenschrift,* 1884, 10, p. 843

NIELSEN B. L. şi ROWSEL C. H. — Toxina în sîngele unui cîine cu tetanos. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 1956, 128, p. 59.

PILLEMER şi col. — *Science,* 1946, 103, p. 615.

POENARU EL. şi col. — Aplicarea metodei sovietice de imunizare raţională la caii producători de ser antitetanic. *Arch. Rom. epid. microbiol.,* 1956, 1, p. 396.

RAMON G. şi DESCOMBEY P. — Despre imunizarea antitetanică şi producerea de antitoxină tetanică. *C. R. Soc. Biol.,* 1925, 93, p. 898 şi 1930, 104, p. 1202, 1931, 106, p. 21, 1932, 111, p. 870 şi p. 872, 1935, 118, p. 112 şi p. 935, 1935, 119, p. 248 şi 906, 1938, 127, p. 1067.

RAMON G. şi LEMETAYER E. — Vaccinarea animalelor domestice contra tetanosului. *C. R. Soc. Biol.,* 1931, 107, p. 1261.

RAMON G. — Anatoxina tetanică şi vaccinarea contra tetanosului. *Ann. de Médecine* 1937, 42, p. 358.

RAMON G. şi col. — Despre serovaccinarea anatoxică şi despre sero-anatoxi-terapia tetanică. *Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hopitaux de Paris,* 1938, nr. 27.

RAMON G. şi col. — Cauze de eroare in determinarea la animalul de experienţă, a activităţii toxinei tetanice. *C. R. Soc. Biol.,* 1937, 124, p. 416, 1938, 127, pp. 1157 şi p. 1160.

REYNAUD M. — Extracţia toxinei tetanice din corpii microbieni. *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 80, p. 356.
SIRMON E. şi MARICA D. — Durata eficacităţii anatoxinei tetanice cu adjuvant de Cl_2Ca. *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1956, nr. 7, p. 62.
SOITUZ V. — Relaţii între mărirea producţiei de toxină şi hiperleucocitoza provocată. *C. R. Soc. Biol.,* 1931, 106, p. 77.
VILLARD L. — Imunitatea în tetanos. *C. R. Soc. Biol.,* 1891, p. 147 şi p. 462.
VAILLARD L. şi ROUGET J. — Contribuţii la studiul tetanosului. *Ann. Inst. Pasteur,* 1892, 6, p. 385
VASSIAN G. I. — Cercetări asupra imunizării animalelor în contra tetanosului. *Teza şc. sup. med. vet.,* 1894.
WASSERMANN A. şi TAKAKI T. — *Berl. Klin. Wschr.,* 1898, 35, p. 5
WATANABE J. — *Jap. Exp. Med.,* 1939, 17, p. 127.
*** Mortalitatea în tetanos. Raport epidemiologic şi demografic. *Organizaţia mondială de sănătate,* 1955, 8, p. 33.

Clostridium botulinum (van Ermengem) Holland, 1920

Sinonime: *Bacillus botulinus* van Ermengem, 1896
Numele comun: bacilul botulinic

Bacilul produce, la om şi unele specii animale, o intoxicaţie cunoscută sub numele de intoxicaţie cu cîrnaţi, *botulism* (*botulus*=cîrnat) sau *allantiasis* (din greceşte, care înseamnă în formă de cîrnat) sau *ichtyosism* (de la grecescul *ichtyos*=peşte). Primele intoxicaţii de acest fel au fost semnalate în Germania pe la începutul secolului al XVIII-lea şi au apărut în urma consumului cărnii conservate, cum sînt diverse mezeluri, cîrnaţi, carne afumată etc. Procesul morbid a fost iniţial atribuit produşilor de putrefacţie ca ptomaine, amine, acizi graşi etc.

Ermengem a arătat însă, în 1896, că botulismul se datoreşte produşilor de secreţie a unei specii bacteriene necunoscute pînă la acea dată; el izolează, într-adevăr, în cursul unei mici epidemii, atît de la bolnavi, cît şi din alimentele pe care aceştia le consumaseră, un bacil anaerob care pune în libertate o toxină capabilă să provoace, la animalele de experienţă, cobai, iepuri, pisici, porumbei şi maimuţe, sindromul botulinic. Acest bacil a făcut apoi obiectul de studiu a numeroşi cercetători.

Botulismul nu este întîlnit numai la om; unele specii animale şi mai ales calul, boul, capra, oaia şi păsările fac de asemenea boala. Intoxicaţia se dezvoltă, ca şi la om, în urma consumului unor alimente care conţin otrava acestui germen.

Bacilii botulinici izolaţi din intoxicaţiile spontane de la om sau animale nu sînt totdeauna identici; ei se deosebesc prin unele însuşiri morfologice, biochimice, culturale şi, mai ales, prin structura antigenică a exotoxinei lor. Studiindu-se paralel mai multe tulpini de origine umană s-a constatat că serul antitoxic preparat cu una din ele nu neutralizează toxina tuturor tulpinilor, şi că din acest punct de vedere tulpinile de bacili botulinici se împart în două grupe denumite A şi B.

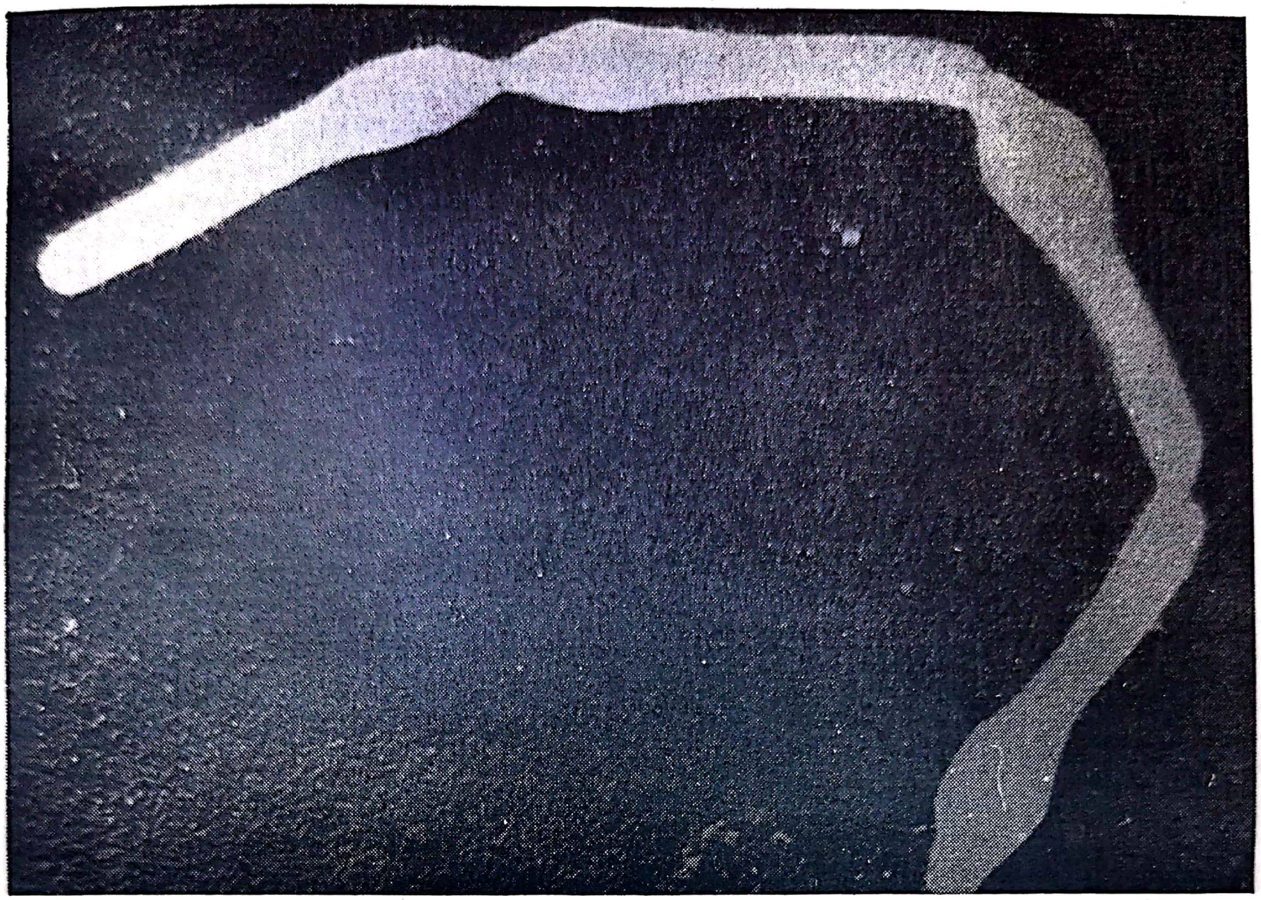


Fig. 127 — Clostridium botulinum, tulpina Milano × 14 000

Se observă patru bacili, fiecare cu spor; cei doi bacili din dreapta sînt pe cale de diviziune și sporii sînt situați la extremitățile distale; la ceilalți doi bacili și ei tot pe cale de diviziune sporii sînt însă situați la extremitățile ce vin în contact

În 1922, se izolează, din larvele de *Lucilia caesar*, recoltate din cadavrul unei găini moarte cu simptome de botulism, un bacil botulinic a cărui toxină nu este neutralizată nici de antitoxina A și nici de antitoxina tipului B. Apare astfel un al treilea tip de bacil botulinic numit C. Același tip a fost izolat mai tîrziu și din osul putrefiat al unui bou. Un al patrulea tip de bacil botulinic a fost izolat în Africa de Sud de la bovine moarte cu simptome de botulism. Bacilul este descris sub numele de *Cl. parabotulinum bovis* și toxina sa diferă de a celor trei tipuri cunoscute; acest germen mai este numit și tipul sau specia D de bacil botulinic. Al cincilea tip, E, este asociat, în special cu intoxicațiile produse prin pește conservat.

Caractere morfologice. Bacilul botulinic este polimorf formele bacilare măsoară 5—10 microni lungime și 1—1,5 microni lățime. În mediile de cultură, pe lîngă forme bacilare se întîlnesc și filamente de lungimi variabile, neregulat ondulate.

Sporulează, în anaerobioză strictă, după o incubație de 24—48 de ore. Sărurile de potasiu și sodiu favorizează sporulația. Sporul este situat central sau subterminal și modifică, prin dimensiunile sale, forma bacilului. Bacilii tipului C au sporii situați terminal.

Bacilii tipului A și B sînt ciliați; numărul cililor variază de la 4 la 20 sau mai mult; mobilitatea este puțin accentuată. Bacilii tipurilor C și D sînt imobili.

Gram pozitiv; în culturile vechi se găsesc elemente care nu mai rețin culoarea Gram.

Habitat și rezistență. Bacilul botulinic ca și alți bacili sporulați, este un anaerob al pămîntului. Cercetîndu-se probe de pămînt recoltat din diverse țări europene, bacilul a fost găsit într-o proporție de 4% în probele provenind din Scoția, 5,5% la cele din Danemarca, 7—8% la cele din Anglia, 20% la cele din Olanda, 23,5% la cele din Elveția. În China, procentul probelor de pămînt pozitive este de 26,9%. În Statele Unite ale Americii, ca și în Canada, frecvența sporilor butulinici în pămînt pare a fi încă și mai mare.

Unii autori găsesc bacilul în 70% din probele de pămînt californian, iar alții în 91,9 din probele de pămînt recoltate din Maryland. Bacilul este mai frecvent întîlnit în pămînturile de pădure sau pășune ca în pămînturile arate. Prezența sa nu este în legătură cu existența animalelor; astfel, el nu se găsește în pămîntul grajdurilor sau în cele din vecinătatea adăposturilor de animale.

Tipurile A și B, care au fost mai îndeaproape cercetate nu sînt uniform răspîndite; astfel, tipul A este răspîndit în zonele vestice ale Statelor Unite, iar tipul B în regiunile riverane cu Oceanul Atlantic. În țările europene este mai frecvent tipul B decît tipul A. Tipul E este răspîndit în Statele Unite și sudul U.R.S.S.

Sporii se răspîndesc din pămînturile sporifere și se pot depune pe diverse alimente de origine animală sau vegetală și dacă condițiile sînt favorabile ei vegetează și se multiplică în alimente. Bacilii au putut fi izolați, de diferiți cercetători, din cutii cu fasole conservată, măsline conservate, porumb conservat, pește conservat, cîrnați, jambon, carne afumată etc. Sporii botulinici nu se găsesc în materiile fecale ale omului sau animalelor sănătoase, deci nu se răspîndesc pe această cale în natură.

Sporii bacilului butulinic rezistă, în comparație cu sporii altor anaerobi, cel mai mult la căldură. Cercetări intense s-au făcut cu privire la această rezistență care prezintă, din punct de vedere al profilaxiei botulismului, o deosebită importanță. Pe baza acestor cercetări s-au stabilit condițiile în care trebuie sterilizate conservele pentru a se evita intoxicația botulinică. Rezistența sporilor la căldură este în funcție de aciditatea mediului și de numărul sporilor; cu cît numărul lor este mai mare, cu atît distrugerea lor completă se face mai încet sau cu cît numărul sporilor este mai mare, cu atît mai ușor se vor găsi elemente foarte rezistente. S-a stabilit că la un pH = 7 și la o concentrație de 5—10 miliarde de spori pe 1 ml, sporii unor tulpini americane rezistă 6 ore la 100°C. După alți autori, sporii botulinici rezistă la 105°C cel mult 3 ore, iar la 120°C cel mult 10 minute. Rezistența sporilor este mai redusă în medii acide (pH=5) sau alcaline (pH=10); sporii tulpinilor de curînd izolate rezistă mai bine ca a tulpinilor de laborator.

Vegetația sporilor încălziți, dar nu omorîți, se face după o lungă perioadă de latență, care poate dura pînă la cîteva luni. Pentru acest motiv, tuburile însămînțate cu spori încălziți trebuie ținute la termostat cel puțin 4 luni înainte de a decide dacă sporii sînt sau nu morți.

Sporii rezistă 10 ani sau mai mult în mediile de cultură păstrate la temperatura camerei.

Formele vegetative sînt sensibile la diverși factori fizici sau chimici; temperatura de 80°C le omoară în 10—15 minute; razele solare directe le distrug în 2—3 zile.

Medii și caractere de cultură. Bacilul este un anaerob strict; se dezvoltă la presiuni mai mici de 15 mm mercur, optimum fiind cuprins între 3 și 8 mm mercur. Se multiplică la temperaturi cuprinse între 15 și 55°C, temperaturile optime fiind între 25 și 38°C. Suportă variații de pH, de la 5 la 9, dar crește bine în medii cu reacție neutră.

Mediile de cultură simple îi oferă principii nutritivi de care are nevoie; se dezvoltă în decocții de fîn, orz, ovăz, în conserve de legume și fructe în absența proteinelor animale și numai în prezența proteinelor vegetale. Se multiplică și produce toxină în apă peptonată; concentrația în peptonă poate varia de la 0,25 la 30%, fără a influența multiplicarea și producția de toxină. Se cultivă și în medii sintetice în care i se oferă ca unic izvor de azot triptofanul. Mediile obișnuite de cultură sînt bulionul cu carne și geloza Veillon.

Materialul suspect, în vederea izolării bacilului, este însămînțat în medii lichide; van Ermengem folosea, drept mediu lichid de izolare, un bulion alcalin glucozat 2%, peptonat 1% și cu 0,6% clorură de sodiu. Alți autori folosesc, în același scop, o infuzie de inimă de bou în amestec cu produsul de digestie a ficatului, totul glucozat, peptonat și alcalinizat cu bicarbonat de sodiu. Acest mediu se prepară astfel:

1. 500 g de inimă de bou tocată se amestecă cu 1 l de apă; totul se încălzește pînă la fierbere; pH-ul lichidului este ajustat la 8—8,2.

2. 400 g de ficat tocat de bou sau porc se amestecă cu 400 g de stomac tocat de porc, 40 g de acid clorhidric și 4 l de apă încălzită la 50°C. Digestia se face la 50°C timp de 18—24 de ore. Apoi cînd reacția biuretului și triptofanului sînt negative, amestecul este fiert 10 minute pentru a opri digestia; se neutralizează cu carbonat de sodiu (indicator turnesolul), se filtrează, se adaogă 0,2% fosfat bibazic de potasiu. pH-ul se ajustează la 7,4.

3. 1 l de infuzie de inimă de bou se amestecă cu 2 l produs de digestie peptică a ficatului; se sterilizează și după 5 zile la 37°C se resterilizează. Glucoza sub formă de soluție este sterilizată separat și adăugată mediului în proporție de 0,25%.

Culturile obținute direct din materialul suspect, în medii lichide, sînt încălzite 1 oră la 100°C, dacă sînt impure, și apoi sînt transplantate pe medii solide, geloză profundă sau plăci cu agar cu sînge, în vederea izolării bacilului în cultură pură.

Unii autori însămînțează materialul găsit suspect prin examenul microscopic, în geloză profundă, după o prealabilă încălzire a materialului la 70°C, timp de $1/2$ oră. Coloniile suspecte apărute după 24 de ore în acest mediu sînt trecute pe medii lichide — bulion glucozat.

Bacilul botulinic, în cultură pură, se dezvoltă abundent în mediile lichide, pe care iniţial le tulbură uniform. După o incubaţie de 36—48 de ore se constituie, pe fundul recipientelor, un depozit abundent. Bacilul produce gaze în mediile cu glucoză. Cultura, în medii lichide, nu are miros fetid, dar exală un miros de acid butiric.

În geloză profundă, bacilul formează colonii de aspect variabil; în general, ele sînt mari, lenticulare, biconvexe sau plate, avînd un nucleu central opac, care este înconjurat de fine arborizaţii laterale; fine bule de gaz infiltrează mediul.

Pe agarul cu sînge şi glucoză bacilul constituie colonii care sînt asemănătoare celor formate pe acelaşi mediu de *Cl. oedematiens.* Coloniile bine dezvoltate sînt înconjurate de o zonă de hemoliză galbenă şi transparentă.

Proprietăţi biochimice. Bacilul botulismului este activ faţă de unele substanţe hidrocarbonate. Astfel, van Ermengem a remarcat că bacilul produce gaze în mediile cu glucoză, dar nu în cele cu zaharoză sau lactoză. După Zeissler, bacilul fermentează constant glucoza şi maltoza şi inconstant levuloza. Cercetările intreprinse în această direcţie de diverşi experimentatori au arătat că modul de comportare a bacilului faţă de substanţele hidrocarbonate este foarte inconstant şi că rezultatele obţinute diferă nu numai de la un tip la altul, ci şi de la o tulpină la alta. Tipul A şi B fermentează cu producţie de gaze, glucoza, levuloza, maltoza, dextrina, glicerina şi salicina; există rari tulpini B, inactive faţă de salicină. În general, tipul B nu fermentează salicina, dar atacă glicerina. Tipul C este activ faţă de glucoză, maltoză, galactoză, levuloză şi inozită, şi este puţin activ faţă de dextrină. Nu fermentează nici glicerina, nici salicina. Mediul, folosit pentru determinarea capacităţii fermentative se prepară din extract de carne (0,3%), peptonă (0,5%) şi din zahărul de examinat (1%) şi este acoperit, pentru a asigura anaerobioza, cu un strat de ulei de vaselină.

Laptele este fermentat de unele tulpini. Tipurile A şi B precipită cazeina din lapte şi o digeră cu o slabă producţie de gaz; tipul C nu precipită însă cazeina şi nu produce gaz în lapte.

Gelatina este lichefiată de toate tulpinile.

Serul coagulat este lichefiat încet şi numai de puţine tulpini.

Albuşul de ou coagulat este digerat numai de unele tulpini. Pornind de la acest fapt s-a propus împărţirea tulpinilor de bacili ai butilismului în două grupe, proteolitice şi neproteolitice, după cum digeră sau nu albuşul de ou coagulat. Tulpinile tipurilor A şi B sînt, în general, proteolitice, ele digerînd gelatina, serul coagulat, albuşul de ou coagulat, şi carnea, iar cele ale tipului C şi D sînt neproteolitice, ele lichefiind numai gelatina.

Tulpinile proteolitice produc amoniac şi, în consecinţă, alcalinizează mediile cele neproteolitice, din contra îl acidifică.

SH_2 este produs numai de tulpinile proteolitice.

Bacilii nu produc indol.

Studii privind metabolismul glucidic şi proteic al bacilului, au fost făcute de mai mulţi cercetători (Anderson, 1924, Wagner şi col.

1925) și mai recent de Radopulo (1951). Acesta din urmă a cercetat metabolismul tipului A şi a stabilit că acizii volatili (acid acetic şi acizi grași) sînt produși în cantitate mai mare în primele 5 zile, în timp ce cantitățile de produși neutri (acetona, etanolul şi butanolul) cresc continuu în mediu. Cantitatea de aldehide se reduce treptat în cursul procesului de fermentare. În ceea ce privește gazele, Radopulo, identifică cantităţi însemnate de acid carbonic şi hidrogen şi cantităţi reduse de azot, hidrogen sulfurat şi mercaptan. Bacilul, în medii peptonate şi glucozate, produce cantităţi însemnate de amoniac, care rezultă din dezaminarea aminoacizilor.

Structură antigenică. Prin seroaglutinare şi pe baza antigenelor flagelare se pot individualiza cel puţin şapte tipuri serologice: trei în grupa A şi patru în grupa B. De asemenea, în grupele C, D şi E există mai multe tipuri serologice flagelare. Aceste grupe serologice nu sînt complet diferenţiate şi bacilii dintr-o grupă pe lîngă antigenul propriu mai conţin şi substanțe antigenice comune cu bacilii altor grupe, astfel că serul aglutinat preparat cu bacilii unei grupe aglutinează la un titru mai scăzut şi germenii altor grupe serologice. Tulpinile toxigene au un antigen O somatic comun. În antigenul somatic al tulpinilor bacilului botulinic există antigeni comuni cu ai speciilor *Cl. sporogenes* şi *Cl. histolyticum.*

Serul aglutinant se prepară pe iepuri cărora li se inoculează, în acest scop, culturi tinere dezintoxicate; injecțiile se fac pe cale intraperitoneală și se repetă de 6—8 ori, la intervale de 3—4 zile. Serul, astfel obţinut este specific.

Unii autori reuşesc să diferenţieze, prin reacţia de fixare a complementului, bacilii tipului A de cei ai tipului B. În cadrul fiecărei grupe ei individualizează, prin fixarea complementului, aceleași subgrupe ca şi prin reacția de seroaglutinare.

Patogenitate. Mulţi cercetători au considerat bacilul botulinic ca un saprofit patogen, un germen incapabil să se multiplice în ţesuturile vii, dar care secretă, atunci cînd găseşte condiţii prielnice de dezvoltare, o toxină extrem de nocivă pentru om şi unele specii animale. După aceşti cercetători, sporii botulinici debarasaţi de toxine sînt inofensivi, fie că sînt administraţi pe cale bucală, fie că sînt inoculaţi pe cale parenterală. Această concepţie a suferit unele modificări, în sensul că, în anumite condiții, sporii pot germina in vivo și produce, consecutiv, o intoxicație. S-a constatat, într-adevăr, că sporii botulinici administrați pe cale bucală sau parenterală în număr mare — 20—50 milioane parenteral, 70—200 milioane enteral — provoacă botulism la animalele sensibile. De la animalele moarte, în asemenea condiţii, sporii pot fi izolaţi frecvent din unele organe ca ficat, creier, splină, rinichi, pulmon, şi mai puţin frecvent din cord. Aceste date nu modifică esenţial afirmaţia după care toxina secretată de bacili este singură responsabilă de botulism; faptul că sporii inoculaţi în număr mare intoxică organismul se explică prin aceea că unii din acești spori găsesc, in vivo, într-un țesut cu fiziologie anormală, condiții prielnice multiplicării și deci producerii de toxină. Amintim aici că modificările tisulare provocate de către substanțe necrozante și antifagocitare ca clorura de calciu sau clorhidratul de chinină nu favorizează vegetația sporilor botulinici. Un asemenea efect l-ar avea formalina; în ţesuturile alterate sub acţiunea acestei substanţe, sporii, chiar în număr mic (25), se multiplică şi produc toxină.

Sporii administraţi per os sau pe cale parenterală, în număr nu prea mare, nu se multiplică, dar se conservă mult timp în organism, de unde pot fi izolaţi, în special din ficat sau splină. Prezenţa lor în organism provoacă apariţia aglutininelor, dar nu a antitoxinelor.

Toxina este secretată de rasele toxigene de bacili in vivo, dar mai ales in vitro, în medii prielnice multiplicării germenilor; o găsim astfel în mediile de cultură obişnuit folosite pentru cultivarea bacilului, precum şi în diverse alimente de origine animală sau vegetală. S-a constatat, de exemplu, că lichidul de maceraţie a unui jambon, care a produs intoxicaţii la om, era toxic pentru animalele de experienţă. Alţi cercetători au pus-o în evidenţă în diverse conserve de peşte, carne sau legume (mazăre, fasole, porumb etc). Conservele cu o reacţie slab acidă favorizează în mod particular producţia de toxină, în timp ce cele net acide, cum sînt conservele de varză, spanac, sfeclă, sînt puţin prielnice şi producţia de toxină este în astfel de conserve inconstantă. În mediile de cultură producţia de toxină se realizează în condiţii optime, la un pH=7,6—7,8.

Secreţia toxică este inhibată la temperaturi mai mici ca 20°C şi ea este maximă la temperaturi cuprinse între 25 şi 35°C. Concentraţia cea mai mare în principii toxici este atinsă după o incubaţie de 11 zile.

Toxina este sensibilă faţă de căldură şi alţi factori fizici. Faţă de căldură toxinele diverselor tulpini se comportă diferit: sînt toxine care se distrug la 80°C în 5 minute, iar altele la aceeaşi temperatură în 60 de minute. Toxina conţinută de diverse conserve alimentare se distruge în mod sigur printr-o încălzire de 20 de minute la 100°C. Lumina directă inactivează lichidele toxice în cîteva zile; la întuneric şi la temperatura camerei toxina se conservă 60—75 de zile, iar la gheţar timp de mai multe luni; la întuneric, în tub închis, ea s-a conservat timp de $13^1/_2$ ani. Clorura de sodiu este nocivă şi, pentru acest motiv, toxinele se conservă mai bine în apă distilată, bulion sau ser sanguin decît în apă fiziologică. Acizii, alcoolul, soluţia Lügol, permanganatul de potasiu o inactivează in vitro. Alcoolul are acelaşi efect şi in vivo, şi administrarea lui pe cale orală, imediat după ce un animal a ingerat o cantitate de toxină, previne intoxicaţia. Formolul, ca şi soluţia Lügol, transformă toxina în anatoxină.

Hidroxidul de aluminiu coloidal fixează, în mare parte, la un pH=7 — —7,6, toxina dintr-un filtrat.

Prin adsorbţii şi eluări repetate, toxina poate fi purificată.

Toxina botulinică, ca şi alte exotoxine bacteriene, este precipitată din filtratul unei culturi, prin sulfatul de amoniu.

Bacilul pune în libertate produşi toxici şi în prezenţa unor altor specii bacteriene, în culturi mixte. Se afirmă că bacilul botulinic se dezvoltă şi produce toxină în aerobioză, în prezenţa unor bacterii ca *Staphilococcus pyogenes, Str. pyogenes, Proteus vulgaris, Bac. coli* şi *Bac. subtilis,* precum şi în medii care nu conţin zaharuri, dar conţin proteine animale. Zaharurile fermentescibile împiedică producţia toxică prin aceea că, în cursul dezintegrării lor de către diastazele bacteriene, pun în libertate acizi care acidifică mediul. Unii anaerobi ca *Bacillus sporogenes, Bac. perfringens, Bac. histolyticus* etc. inactivează în culturi mixte, secrețiile toxice ale bacilului botulinic.

Toxina botulinică este patogenă pentru diverse specii animale. Dozele minime mortale, variază în raport cu specia animală și cu calea de administrare. Calea parenterală este, pentru unele specii de animale, mai severă ca cea orală ; de exemplu, pentru cobai, doza minimă mortală, pe cale bucală, este de 10 000 de ori mai mare ca doza minimă letală pe cale intraperitoneală.

Cobaiul. Filtratul culturilor provenind din tulpini toxigene omoară cobaiul, pe cale subcutană, în doză de 1/10 000—1/1 000 000 în cîteva zile. Dozele mari, 1 ml — 0,1 ml îl omoară în mai puțin de 24 de ore. Cu cît se reduce doza, cu atît durata maladiei se prelungește.

Simptomele intoxicației. Animalul prezintă, după o perioadă de incubație a cărei durată variază în raport cu doza și calea de inoculare, întîi o încordare a mușchilor abdominali și apoi o atonie totală a mușchilor voluntari ; aceste simptome sînt însoțite de tulburări respiratorii — la început respirație accelerată, mai tîrziu încetinită, dispneică — precum și de salivație abundentă, constipație, retenție urinară ; în cazurile cronice, animalul se cașectizează și poate prezenta un prolaps al penisului. Simptomele nu sînt totdeauna perceptibile clinic și animalul poate muri fără a prezenta vreo tulburare manifestă.

La autopsie, se constată congestia organelor interne ; stomacul este plin cu alimente ; vezica urinară și vezica biliară pline cu secrețiile respective.

Șoarecele este foarte sensibil și doze infinitezimale îi provoacă o intoxicație mortală ; animalul intoxicat prezintă o pareză a membrelor posterioare ; în urma injecțiilor intraperitoneale se produce o paralizie a mușchilor diafragmatici și, consecutiv, respirație grea de tip costo-abdominal. La autopsie se constată congestia organelor interne în special a pulmonului.

Șobolanul se comportă ca și șoarecele.

Iepurele se intoxică ușor pe cale parenterală și mai greu per os. Calea intravasculară este cea mai severă și este urmată, în ordinea gravității simptomelor, de calea intramusculară, intracerebrală și intrabucală.

În experiențele lui van Ermengem, doza minimă mortală pentru iepure varia de la 0,0003 la 0,001 ml de cultură. În experiențele lui Legroux și colaboratorii, doza minimă mortală, pe cale intravasculară, era de 10—5 ml, iar pe cale bucală de 0,1.

Simptome. Animalul prezintă, după o perioadă de incubație de minimum 30 de minute, o pareză musculară accentuată ; primele simptome apar la trenul posterior și constau, inițial, dintr-un spasm al mușchilor și apoi paralizii ; animalul în mers se tîrîie pe picioarele dinapoi, apare apoi hipotonia mușchilor abdominali și toracici ; capul se pleacă pe o parte, ca o consecință a paraliziei mușchilor cefei. Culcat pe o parte animalul nu se mai poate ridica ; pupilele sînt dilatate ; pleoapa a treia căzută ; animalul nu mănîncă, nu bea și este afon ; respirația devine din ce în ce mai slabă ; constipația și retenția urinară sînt prezente ; către faza finală se pot observa şi contracţii clonice. Moartea survine prin oprirea respiraţiei ; cordul îşi mai poate menţine activitatea cîtva timp după oprirea respiraţiei. La autopsie, vezica urinară şi biliară sînt pline.

Maimuţele (Macacus rhesus) sînt sensibile ; doza minimă mortală variază de la 0,0 001 la 0,01 ml ; animalul bolnav nu mănîncă ; prezintă scurgeri nazale şi salivaţie abundentă ; pupilele sînt dilatate şi imobile. La autopsie se constată congestia organelor interne, şi, eventual, focare de pneumonie.

Calul, oaia, capra şi mai puţin *boul* sînt sensibili faţă de intoxicaţiile experimentale ; la fel de sensibile sînt şi *păsările*. Doza minimă mortală pentru porumbel este de 0,5—1 ml. La cal, doza de 0,1 g de toxină precipitată produce intoxicaţia şi moartea în 18 ore. Toxina este prezentă în sînge 7 ore după administrarea orală şi, după moarte, se găseşte în serul sanguin, centri nervoşi, lichidul cefalorahidian, viscere etc. (Jacotot şi col., 1951).

Pisica este foarte rezistentă, ceea ce s-ar datori unor stări de premuniţie (Prévot şi Sillioc, 1955) ; dozele mari de 0,5—1 ml de toxină o omoară totuşi în 6—8 zile ; animalul intoxicat prezintă o dilataţie a pupilelor, paralizia limbii, afonie, constipaţie, retenţie urinară ; muşchii oculari sînt paralizaţi şi globul ocular este fix ; respiraţia este de tip costo-abdominal ; animalul poate prezenta de asemenea paralizii ale trenului posterior.

Pisica, după Prévot şi Sillioc (1955), poate fi purtătoare de bacili botulinici, fără a prezenta tulburări specifice. În cazul cînd o pisică purtătoare moare din alte cauze şi nu datorită infecţiei botulinice, în cadavru bacilul se multiplică, produce toxina, şi cadavrul devine astfel botuligen.

Cîinele este foarte rezistent, dar dozele masive, administrate pe cale parenterală, îl intoxică, producînd ca şi la celelalte specii animale parezii şi paralizii ale muşchilor voluntari. Animalul intoxicat prezintă paralizia muşchilor membrelor posterioare, paralizia limbii, dilataţia pupilelor, fotofobie şi, uneori, conjunctivită şi lacrimaţia abundentă ; vocea este schimbată sau animalul este complet afon ; la început prezintă o salivaţie abundentă, mai tîrziu secreţia dispare şi gura se usucă ; constipaţie şi dispnee către sfîrşitul bolii. La autopsie se constată congestii ale organelor interne, infarcte în splină şi pulmon, precum şi focare de pneumonie.

Patogenie. Toxina administrată per os, în doze convenabile, intoxică animalele receptive. Capacitatea toxinei botulinice de a fi patogenă pe cale bucală se datoreşte, în primul rînd, rezistenţei sale faţă de fermenţii stomacali — pepsina — şi intestinali — tripsina — şi în al doilea rînd, faptului că ea poate traversa peretele tubului gastrointestinal. Se admite chiar că aciditatea stomacală măreşte activitatea toxinei. Toxina traversează peretele tubului gastrointestinal în special la nivelul stomacului, care este cel mai permeabil, peretele intestinului subţire fiind puţin permeabil, iar cel al intestinului gros fiind complet impermeabil. Trecerea toxinei din tubul digestiv în circulaţia generală se face repede după administrare şi van Ermengem găseşte că sîngele unui cobai, care a ingerat 5 ml de toxină, conţine după 30 de minute de la administrare, principiul toxic într-o astfel de concentrație, încît 0,5 ml omoară șoarecele. Toxina a fost pusă în evidență și în sîngele oamenilor bolnavi de botulism.

Pareziile și paraliziile consecutive intoxicațiilor botulinice sînt datorite, după unii cercetători, fixării toxinei pe centri nervoși motori din bulb și măduva spinării, iar după alții alterării terminațiilor nervilor motori din mușchii scheletici și diafragmatici. Marinescu a pus în evidență în celulele nervoase ale centrilor oculomotori și în cele ale nucleului median al acomodației, cromatoliza sau numai granularea corpusculilor lui Nissl. Unii neuroni sînt înconjurați cu celule satelite. Aceste leziuni nu par a fi constante. Se afirmă de unii cercetători că mecanismul paraliziilor este de natură umorală și rezultă dintr-o diminuare a sintezei acetilcolinei în prezența toxinei.

Modificările anatomice, macro — și microscopice, produse de toxina botulinică, constau din congestii, tromboze și hemoragii ; asemenea leziuni se găsesc în centrii nervoși, ca și în organele splanchnice. Ficatul prezintă adeseori o degenerare grasă.

Alte secreții toxice. Bacilul botulinic pune în libertate în mediile de cultură, pe lîngă toxina specifică și alți factori toxici. Astfel, în culturile tinere de 16—24 de ore se pot găsi hemolizine, care sînt de o extremă fragilitate și dispar în culturile mai vechi de 48 de ore. Filtratele, în doze mari — 0,5 ml sau mai mult — omoară cobaiul în cîteva minute ; acest rezultat nu se datorește toxinei botulinice însăși, ci unor produse toxice de altă natură, care rezultă din metabolismul bacterian.

Intoxicația botulinică naturală este întîlnită la om și cele mai diverse specii de animale domestice, bovine, cabaline, porcine, păsări etc.

Intoxicația la om este destul de răspîndită în țările anglo-saxone și în special Statele Unite ale Americii ; este relativ rară în unele țări europene, U.R.S.S., Franța, frecventă în țările de jos și nord-vestul Germaniei. Pe teritoriul R.P.R. s-au semnalat doar cîteva focare familiale, unele în 1925 (Nicolau) altele între 1942—1951 (Ionescu-Sisești și col.,) toate cazurile apărînd după consumarea unor conserve făcute în casă. Este foarte probabil că o dată cu extinderea consumului de alimente conservate, cazurile să devină mai frecvente. Cele mai variate alimente ca șunca, cîrnații, carnea afumată, conservele de pește sau legume pot fi originea unei intoxicații umane.

Omul este foarte sensibil față de toxină și cantități mici de otravă îi produc o intoxicație mortală ; se citează astfel, o intoxicație botulinică mortală la un om care a consumat o jumătate de măslină. Mortalitatea variază în limite foarte largi — 2 pînă la 100%, în medie 30—70% — și este în funcție de cantitatea și activitatea toxinei ingerate. In America, unde intoxicațiile se produc prin alimente de natură vegetală, mortalitatea este mai mare ca în Europa, unde boala survine în urma consumului cărnii infectate, în special, a celei de porc (93%). Intoxicațiile umane sînt, în general, produse de tipul A în țările americane și de tipul B în țările din Europa și Asia. Totuși, în Franța, în perioada 1940—1944, s-a izolat și tipul A. Tipul C a fost foarte rar găsit la om. Tipul E a fost identificat în sudul U.R.S.S.

Simptomele apar 1—3, rar 7 zile după ingestia alimentelor. Cu cît simptomele apar mai repede, cu atît prognosticul este mai grav; în cazurile grave, ele apar chiar după 1—24 de ore. Rapiditatea apariţiei simptomelor este în funcţie de cantitatea de toxină ingerată.

Debutul este, în general brusc, bolnavul prezentînd de la început greaţă, vomismente şi diaree. Curînd după aceste prime simptome se instalează o senzaţie caracteristică de oboseală, de slăbiciune musculară, urmată de tulburări nervoase: midriază (dilatarea pupilelor), tulburări de acomodaţie, paralizii oculare, diplopie, strabism, ptoza pleoapelor. Pot apărea apoi tulburări de deglutiţie şi fonaţie, cu vorbire grea, pînă la afonie. Din cauza paraliziei muşchilor respiratorii, respiraţia este dispneică. Paralizii ale membrelor se pot înregistra. Tulburările neurovegetative se exprimă în special printr-o lipsă de secreţie a glandelor sudoripare şi a tubului digestiv. Consecutiv, pielea şi mucoasele bucale şi nazale se usucă, iar constipaţia este rebelă la orice tratament. Pofta de mîncare de asemenea şi din aceeaşi cauză este absentă.

Tulburările cardiace ca bradycardie, extrasistole şi alteraţii ale curbei electrocardiografice se înregistrează de asemenea.

Moartea survine 4—8 zile după apariţia simptomelor şi se datoreşte tulburărilor respiratorii şi cardiace. La autopsie se constată leziuni congestive, tromboze, rupturi vasculare şi, uneori, degenerarea grasă a ficatului.

Vindecările se fac încet, dar complet. Fenomenele oculare dispar cele din urmă. Formele fruste se manifestă doar prin tulburări de acomodaţie, uscarea gurii, constipaţie etc. şi se vindecă fără tratament.

Calul prezintă intoxicaţii botulinice spontane în urma consumului furajelor alterate — fîn, ovăz, sfeclă etc. Boala este cunoscută în America sub numele de meningită cerebrospinală; în Europa (Belgia, Olanda, Anglia) şi Australia sub numele de paralizie bulbară, iar în Africa de Sud, paralizie spinală. În America, intoxicaţiile botulinice la cal sînt produse de tipurile A şi B, în Australia de tipul C şi în Africa de Sud de tipul D *(Cl. parabotulinum equi)*, în Belgia de tipul D. Tipul D este identic după unele cercetări, cu tipul C (Willems, 1954). Identitatea afecţiunilor paralitice observate la cai cu botulismul a fost demonstrată de diferiţi cercetători.

Unii autori au reprodus la cal asemenea afecţiuni folosind toxina diverselor tipuri — A,B,C — de bacili botulinici. Se constată de asemenea că anaerobii izolaţi din tubul digestiv al animalelor intoxicate sau din furajele care au produs intoxicaţia secretă o toxină care provoacă botulism la animalele de experienţă şi că serul antibotulinic previne la cabaline o intoxicaţie cu furajele toxice.

Unii autori au demonstrat prezenţa toxinei în furajele intoxicante; într-adevăr, lichidul de maceraţie a unor asemenea furaje provoacă sindromul botulinic la animalele de experienţă sensibile. Toxina a fost găsită şi în furaje uscate. Se admite că în silozuri există condiţii care ar permite multiplicarea germenilor şi, consecutiv, intoxicarea nutreţurilor. În condiţii experimentale, un asemenea fenomen a putut fi reprodus. Alţi autori nu cred posibilă multiplicarea bacilului în furaje; ei admit că furajele pot fi intoxicate, însă multiplicarea bacilului se face în țesuturile animale, în cadavrele și în materiile fecale de origine animală, care pot fi incluse în nutrețuri în momentul recoltei — cadavre de șoareci, șobolani, pisici etc. Se citează astfel, o intoxicație botulinică la un măgar care a consumat conținutul rumenului unui bou mort, precum și o intoxicație asemănătoare produsă la un cal care a mîncat ovăz murdărit cu materii fecale de pasăre.

Clinic, intoxicația la cal poate evolua supraacut, acut, subacut și cronic. Intoxicațiile supraacute evoluează fulgerător; animalul este găsit mort dimineața sau boala durează doar cîteva ore și se manifestă printr-o accentuată slăbiciune musculară; animalul cade și rămîne culcat în decubitus lateral complet pînă la moarte; el face eforturi repetate să se ridice sau cel puțin să-și ridice capul, dar aceste eforturi sînt de obicei fără rezultat. Animalul moare în comă, prin asfixie. Forma acută a bolii durează 2—6 zile și se manifestă prin aceeași atonie musculară; animalul în mers prezintă oscilații ale trenului posterior. Reflexele sînt normale și animalul reacționează la zgomote. În formele subacute animalul este bolnav 7 zile sau mai mult, iar în cele cronice cîteva săptămîni sau luni. Vindecările se semnalează printre cazurile cu evoluție cronică.

Animalele intoxicate prezintă, în afară de greutate în mers, dificultăți în prehensiunea alimentelor și în deglutiție; paraliziile mușchilor capului sînt de origine bulbară și fac greoaie prinderea hranei; alimentele pătrunse în gură pot rămîne aici din cauză că deglutiția nu se poate face. Paralizia limbii este frecvent observată în asemenea cazuri; ea poate rămîne constant căzută în afară de gură și atunci se tumefiază, se ulcerează și se cianozează. Respirația din cauza paraliziilor musculare este dispneică; nările sînt dilatate. Constipația este frecventă, dar nu regulat observată; bolnavul poate prezenta o retenție urinară. Fenomenele pulmonare pot apare către sfîrșitul bolii, ca urmare a greutății de înghițire și a pătrunderii alimentelor în pulmon. Mucoasa conjunctivală este adeseori congestionată și poate prezenta și echimoze. Reflexele sînt de regulă nealterate în tot cursul bolii. Animalele sînt constant afebrile; tabloul sanguin este normal.

Leziunile anatomice sînt practic inexistente. Se constată uneori leziuni asfixice, congestie renală. Leziunile histologice ale nervilor constă doar dintr-un edem superficial (Levaditi și col., 1943).

Vindecările sînt rare și cea mai mare parte dintre animalele intoxicate mor.

La bovine, botulismul a fost descris în 1920. Anaerobul izolat din cazurile de boală a fost considerat ca agentul bolii și identificat cu tipul C de bacil botulinic. Tipurile A și B nu au fost întîlnite în intoxicațiile spontane ale bovinelor. Identitatea acestor afecțiuni cu sindromul botulinic a fost demonstrată experimental. S-a constatat cu această ocazie că bovinele sînt mult mai puțin receptive față de toxina botulinică decît calul, capra, oaia sau păsările. Intoxicația mortală la bovine este produsă cu 5 ml de toxină.

Boala apare ca o consecință a consumului de furaje toxice. Nutrețul conservat în silozuri este, de cele mai multe ori, cauza unor asemenea intoxicații. Theiler și Robinson admit că în Africa de Sud, Texas și Australia intoxicația apare în urma consumului de către bovine a oaselor găsite pe cîmp de animale, oase care ar conține bacilul și toxina sa. Consumul oaselor nu este desigur un fenomen normal. El este determinat de sărăcia în fosfor a furajelor consumate și deci a terenurilor pe care se recoltează aceste furaje. Examinînd conținutul în fosfor al ierbii, autorii au constatat că osteofagia crește pe măsură ce iarba devine mai săracă în fosfor. Paralel cu creșterea consumului de oase crește și procentul animalelor intoxicate.

Intoxicația evoluează la bovine ca și la cabaline și anume supraacut, acut, subacut și cronic, și se manifestă prin parezii și paralizii musculare. Perioada de incubație durează cîteva zile. Animalul bolnav stă culcat cu capul la pămînt și eforturile de a se scula sau a ridica capul rămîn de obicei fără rezultat. În plus, animalul poate prezenta paralizia maxilarului inferior, a limbii, care atîrnă, în acest caz, afară din gură; deglutiția se face cu greutate; salivația este abundentă; materiile fecale sînt uscate și coafate. Reflexele se conservă pînă ce animalul intră în comă.

Vindecările sînt mai frecvente în cazurile cronice ca în cele cu o evoluție rapidă.

Caprele sînt foarte sensibile față de toxina botulinică. În Africa de Sud intoxicațiile la capre evoluează paralel cu botulismul la bovine. Boala evoluează supraacut, subacut sau cronic și se manifestă prin atonii musculare și paralizii ale maxilarului inferior, limbii etc. Animalul stă culcat și dacă este ridicat nu se poate menține pe picioare. Cazurile cu evoluție rapidă sînt aproape fără excepție mortale; cele cronice se pot vindeca.

Ovinele sînt sensibile față de toxina botulinică, însă intoxicațiile spontane sînt rar întîlnite. Boala apare și evoluează în aceleași condiții și are același aspect ca și la capre.

Cîinele. Intoxicațiile botulinice au fost rar întîlnite la această specie Ele se traduc clinic printr-un sindrom neuro-oculo-digestiv apiretic și sînt de regulă vindecabile. Simptomele nervoase constau din imobilitate, stupoare, slăbiciune generală, paralizii ale mușchilor gîtului și a spetei, stări letargice, putînd merge pînă la colaps. Simptomele oculare se manifestă prin injecția screloticii, cheratită, eventual ulcer cornean, hemoragii în camera anterioară a ochiului, irită, strabism, etc., iar cele digestive prin disfagie, anorexie, constipație etc.

Păsările, în special găinile, sînt foarte sensibile față de toxina botulinică și intoxicațiile spontane sînt foarte frecvente și evoluează, mai ales în America, sub formă de epizootii extrem de ucigătoare. Păsările se intoxică consumînd aceleași alimente ca și omul și intoxicația proprietarului și păsărilor sale evoluează de multe ori paralel.

Boala la păsări a putut fi reprodusă experimental administrîndu-se fie conserve de fasole, mazăre sau porumb, infectate experimental, fie larve ale muștei *Lucilia caesar,* dezvoltate în cadavrele păsărilor moarte de botulism spontan.

In Africa de Sud, intoxicații botulinice s-au constatat la rațe și struți. In Franța, s-au descris asemenea intoxicații la curcani și rațe care au mîncat mazăre conservată.

Boala are la păsări o evoluție rapidă; animalul prezintă inițial tulburări locomotorii, apoi se paralizează și moare în cîteva ore. Vindecările sînt foarte rare.

Cobaii și *iepurii* prezintă excepțional de rar intoxicații spontane.

Diagnosticul clinic al intoxicațiilor botulinice este greu, mai ales în regiunile în care boala apare pentru prima oară.

Examenul clinic al animalelor suspecte trebuie făcut cu mare grijă și simptomele nervoase amănunțit analizate. Paraliziile botulinice sînt de origine bulbară și se traduc prin midriază, prolaps al limbii, disfagie, afonie. Prezența acestor simptome caracteristice trebuie atent observată, pentru a nu confunda botulismul cu paralizii de altă natură. Animalele intoxicate nu prezintă tulburări de sensibilitate: auzul, văzul și sensibilitatea sînt normale. Un diagnostic sigur nu se poate face decît asociind examenul clinic, cu cercetarea de laborator. La laborator se urmărește punerea în evidență a bacilului și a toxinei sale în alimentele încriminate, sau, la cadavru, în conținutul stomacal și organe. Toxina și bacilul pot fi într-adevăr găsite în ficatul animalelor moarte.

Pentru a pune în evidență toxina, se procedează astfel: 50 g de ficat se triturează cu puțină apă fiziologică, se centrifughează și lichidul obținut se inoculează la cobai (1—5 ml) și șoareci (0,1—0,3 ml).

Pentru a izola bacilii, se procedează astfel: 500 g de ficat se pun într-un borcan, lipsit de aer, la 37°C; din 2 în 2 zile se recoltează lichidul rezultat din putrefierea organului și se însămînțează pe medii convenabile, în care se caută apoi toxina, prin inocularea la animale.

Diagnosticul botulismului uman poate fi la fel ușurat, mai ales în faza sa incipientă, prin cercetări de laborator care permit izolarea bacilului și mai ales a toxinei în primul rînd din conținutul stomacal și intestinal, apoi din alimentele suspecte, urină și sînge. Filtratele acestor produse, unele din ele macerate în apă fiziologică, inoculate, în doză de 0,5 ml intraperitoneal, la șoareci, provoacă o intoxicație care omoară animalul în cîteva ore atunci cînd conțin toxina botulinică.

Prezența toxinei în diverse materiale patologice sau în culturi se poate pune în evidență, după Minervin și colaboratorii (1956), determinînd capacitatea lichidului respectiv de a inhiba fagocitoza, toxina botulinică avînd această proprietate. În acest scop se amestecă în tuburi de reacție:

1 parte soluție de citrat de sodiu 2% sterilă;
2 părți sînge de iepure proaspăt recoltat;
1 parte din lichidul de examinat ca atare și diluat;
1 parte suspensie de stafilococi conținînd 2 miliarde elemente pe 1 ml.

Tuburile se pun la termostat timp de 20 de minute și apoi se fac frotiuri, numărîndu-se cocii fagocitați de 50 polinucleare. Cifra obținută se împarte cu 50, determinîndu-se astfel indicele fagocitar. Cercetarea se face cu martori — tuburi fără toxină. Prin acest procedeu se poate determina și tipul formei prezente în produsul de examinat, sprijinindu-ne pe observația că un ser antibotulinic inhibă specific activitatea antifagocitară a toxinei homoloage. Pentru aceasta, în cinci tuburi se adaugă cele cinci seruri antibotulinice, un al 6-lea servind ca martor. Toxina aparține tipului de ser care a anihilat activitatea antifagocitară. Tipul toxinei se poate preciza și folosind cobai serumizaţi faţă de toxina diverselor tipuri de bacili. In acest scop se inoculează suspensii din alimentul respectiv în amestec cu ser A la un cobai şi cu ser B la alt cobai; unul din cobai, şi anume cel care a primit toxina fără serul neutralizant corespunzătoar, moare în 15—18 ore. Tipul intoxicant din alimente aparţine tipului serului care a protejat cobaiul.

Prevenţie şi tratament. Botulismul uman poate fi prevenit printr-un sever control al fabricilor de conserve, precum şi prin controlul tuturor alimentelor conservate. Conservele preparate în casă sînt uneori şi ele foarte periculoase. In Franţa, de exemplu, în perioada 1940—1944 s-au observat intoxicaţii botulinice la 1 000 de persoane, cu conserve preparate în gospodărie. Incălzirea alimentelor înainte de a fi consumate evită intoxicaţia; temperatura de 60°C distruge într-adevăr toxina.

La animale, măsurile preventive sînt mai greu de aplicat. Se afirmă că s-a reuşit să se prevină în parte botulismul bovideelor, înlăturînd printr-o alimentaţie bogată în fosfor osteofagia. Cabalinele care consumă furaje suspecte pot fi injectate preventiv cu ser antitoxic bivalent, corespunzător tipurilor A şi B.

Serul antitoxic este pînă în prezent singurul mijloc eficace în prevenirea, ca şi în tratamentul botulismului. El se poate prepara pe diverse specii animale, însă calul este animalul care corespunde cel mai bine acestui scop. Antigenii folosiţi pentru hiperimunizare au variat de la un autor la altul. Weinberg şi Goy au întrebuinţat, drept antigen, anatoxina obţinută, formolînd toxina 1—3% şi păstrînd-o 51 de zile la termostat sau formolînd-o 8—16‰ şi ţinînd-o 12—17 zile la 37°C. Anatoxina astfel preparată este inofensivă, dar vaccinantă pentru cobai, iepuri şi cai. Un cal care a primit 30, 60, 110, 200, 300 şi 500 ml de anatoxină avea, după a cincea injecţie făcută cu 300 ml, un ser de o remarcabilă putere antitoxică; în doza de 1/3 000 ml neutraliza 100 de doze minime mortale de toxină A. Incercările de a prepara, pe acelaşi animal, un ser bivalent, anti-A şi anti-B, nu au dat rezultate şi Weinberg recomandă ca serurile imune corespunzătoare celor două tipuri să se prepare pe animale deosebite.

Anatoxina botulinică, administrată pe cale bucală, imunizează într-o măsură redusă, animalele de experienţă (iepurii). Weinberg şi Goy au observat într-adevăr, că iepurii care au primit în repetate rînduri anatoxina pe cale bucală rezistă faţă de injecţia doar a cîtorva doze minime mortale de toxină.

Serul antitoxic a fost folosit în special în tratamentul botulismului uman; rezultatele, mai ales cînd se intervine îndată după apariţia primelor simptome, sînt bune. Welikanow constată că din 119 bolnavi trataţi cu ser bivalent (A+B) au murit 24 (20%), în timp ce din 75 de bolnavi netrataţi au murit 70 (93%). Dozele injectate în scop terapeutic variază de la 60 la 100 ml; în cazurile grave se poate administra o cantitate mai mare şi se citează bolnavi care au primit 500—700 ml.

Tratamentul seric este asociat cu unul medicamentos. Astfel, narcoticele cum sînt: morfina, eterul, luminalul etc. sînt întrebuinţate paralel cu serul antibotulinic; aceste substanţe, în cercetările experimentale s-au arătat capabile să întîrzie evoluţia şi moartea animalelor injectate cu toxină. Unii autori, plecînd de la ipoteza că toxina botulinică acţionează in vivo ca şi curara, au recomandat întrebuinţarea, în tratamentul botulismului, a fisostigminei care este un antagonist al acestui alcaloid.

In intoxicaţiile grave se fac de asemenea spălături stomacale mari pentru a elimina în acest fel, toxina neabsorbită. Dat fiind că toxina se găseşte în mare cantitate în sînge, se recomandă sîngerarea masivă, mai ales în cazuri grave, precum şi transfuzii de plasmă. Respiraţia artificială este la fel recomandată în cazurile grave. Sincopa respiratorie precedează cu mult oprirea bătăilor inimii, şi de aceea se recomandă ca bolnavii grav să fie puşi, de la început, într-un pulmon de oţel, evitîndu-se astfel moartea prin asfixie.

Animalele, în regiunile în care botulismul este enzootic, pot fi imunizate cu anatoxină. Mason şi colaboratorii (1938) au arătat, în acest sens, că bovinele pot fi cu succes vaccinate cu anatoxină C şi D. Rezultate similare s-au obţinut şi la ovine în Australia de către Bennetts şi Hall (1938).

Anatoxina folosită la imunizarea animalelor trebuie să aibă o anumită valoare antigenică. Cum nu este o legătură directă între valoarea toxică a toxinei folosite şi capacitatea antigenică a anatoxinei obţinute, este necesar ca această capacitate să fie determinată înaintea folosirii anatoxinei pe teren. Determinarea se poate face prin mai multe metode, şi anume:

1. Inocularea anatoxinei la cobai şi determinarea ulterioară a conţinutului în antitoxină a serului cobailor;

2. Determinarea puterii de fixare a antitoxinei dintr-un ser. In acest scop, se amestecă cantităţi variabile de anatoxină cu cantităţi fixe de ser (o unitate antitoxică) şi după 2 ore de contact se adaugă o cantitate fixă de toxină; după 1 oră de contact se inoculează amestecul la cobai care sînt ţinuţi în observaţie 5 zile; se poate astfel stabili cantitatea minimă de anatoxină care a fixat antitoxina din ser; cu cît această cantitate este mai mică, cu atît anatoxina are o capacitate antigenică mai ridicată. O bună anatoxină fixează anticorpii din ser în doză de 0,025 ml (Sterne şi Mason, 1941).

3. Anatoxina se inoculează la cobai de două ori, la interval de 25 de zile, în doze diferite. După 14 zile animalele sînt controlate cu 2—3 d.l.m. de toxină. Cobaii rezistă la această probă, de control atunci cînd anatoxina folosită pentru imunizare a avut o valoare antigenică acceptabilă. In cazul cînd animalele nu rezistă, toxina nu poate fi folosită pe teren.

BIBLIOGRAFIE

ANTERSON B. G. — Metabolismul gazos la unele bacterii anaerobe. *J. inf. Dis.*, 1924, 35, p. 219.

BENNETTS W. şi HALL B. — Botulismul la oi şi vaci în Australia de Vest. Cauzele lui şi prevenţia prin imunizare. *Aust. Vet. J.*, 1938, 14, p. 105

ERMENGEM VAN — *Zbl. f. Bakt. O.*, 1896, 19, p. 443 şi *Z. f. Hyg.* 1897, 26, p. 48.

JACQUET J. şi PRÉVOT R. — Cercetări asupra botulismului equin experimental. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, 81, p. 334.

JACQUET J. — Botulismul equin și mai ales botulismul experimental provocat cu ajutorul toxinei. *Off. Int. Epizoot.*, 1954, 42, p. 473.

LAPCEVIN E. — Intoxicația cailor prin botulism. *Off. Int. Epizoot.*, 1954, 42, p. 507.

MASON H. și col. — Imunizarea bovinelor contra botulismului. *J. South. Afr. Vet. Med. Ass.*, 1938, 9, p. 65.

MINERVIN M. S. și col. — Observații privind inhibarea proprietăților fagocitare ale leucocitelor de către toxina botulinică. *J.M.E.I.*, 1956, nr. 6, p. 44.

PRÉVOT A. și SILLIOC R. — O enigmă biologică; pisica și botulismul. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 89, p. 354.

RADOPULO — Despre metabolismul speciei Bacillus botulinus. *Mikrobiologhia,* 1951, 20, nr. 1, p. 26.

STERNE M. și MASON J. — Determinarea valorii antigenice a anatoxinei botulinice prin proba puterii totale de combinare cu antitoxina. *J. South. Afr. Vet. Med. Ass.*, 1941, 12, p. 82.

STERNE M. și WENTZEL — O nouă metodă pentru producția, pe scară largă, a unei anatoxine botulinice de tip C și D de înalt titru. *Journ. of Imunology*, 1950, 65.

UBERTINI B. și BIANCHI E. — Botulismul animalelor. *Off. Int. Epizoot.*, 1954, 42, p. 514.

WAGNER E. și col. — Studii privind metabolismul botulismului în diverse medii *J. Bact.*, 1925, 10, p. 321.

WILLEMS R. — Botulismul calului. *Off. Int. Epizoot.*, 1954, 42, p. 482

Clostridium chauvoei Scott, 1926[1]

Sinonime: *Clostridium feseri* Trevisan, 1885. *Bacterium chauvoei* Arloing, Cornevin și Thomas, 1887. *Bacillus gangrenae emphysematosae* Hutyra și Marek, 1910. Rauschbrandbacillus Zeissler, 1920.
Numele obișnuit: bacilul cărbunelui enfizematos sau al cărbunelui simptomatic sau cărbunelui bacterien.

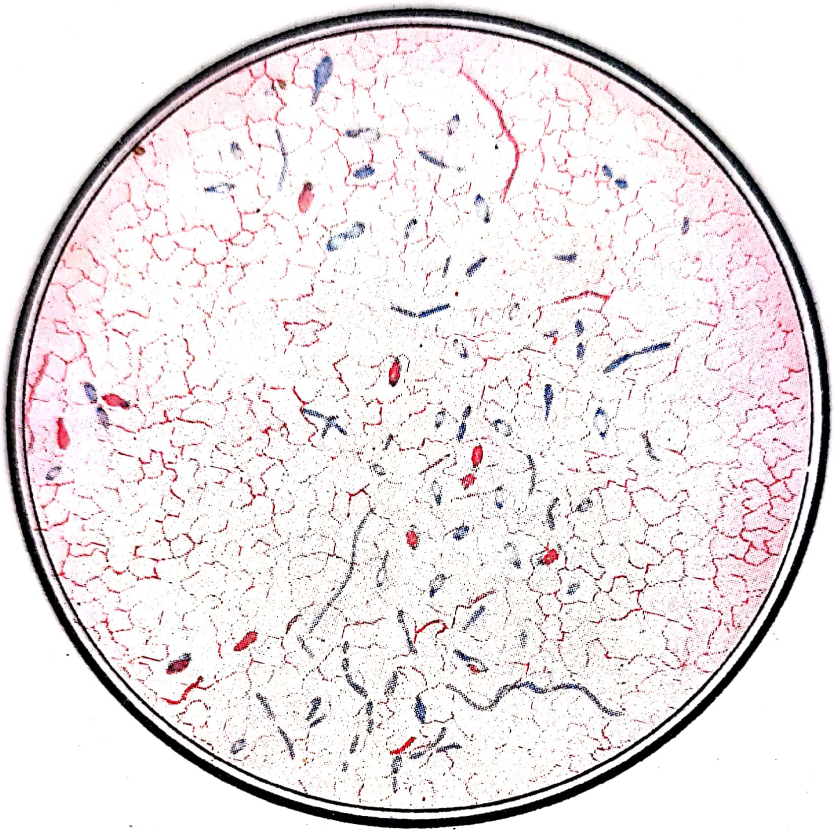
Arloing, Cornevin și Thomas, în 1879, descoperă bacilul în tumorile emfizematoase ale bovideelor și îi studiază caracterele; cu această ocazie, autorii demonstrează că agentul tumorilor emfizematoase este total diferit de cel al antraxului distingînd astfel cele două infecții — cărbunele emfizematos sau bacterian și antraxul sau cărbunele bacteridian, mult timp confundate de clinicieni. Studiile ulterioare au precizat rolul acestui bacil în etiologia cărbunelui emfizematos, numit încă și cărbunele simptomatic, precum și relațiile sale cu alți anaerobi și, în special, cu vibrionul septic.

Caractere morfologice. Bacil extrem de polimorf; în culturile tinere și în tumorile pe care le provoacă germenul se prezintă ca un bastonaș, cu capetele rotunde, lung de 3—8 microni, lat de 0,5—1 microni. Alături de formele bacilare se găsesc, mai ales în culturile vechi, forme de navetă, lămîie etc. In general, bacilii nu formează lanțuri și nici fila-

---

[1] *J. inf. Dis.* 1926, 38, p. 262.

PLANȘA XII



Clostridium chauvoei
Frotiu din cultură pe bulion cu carne glucozat. Colorație:
Gram (desen: *Cerni*)

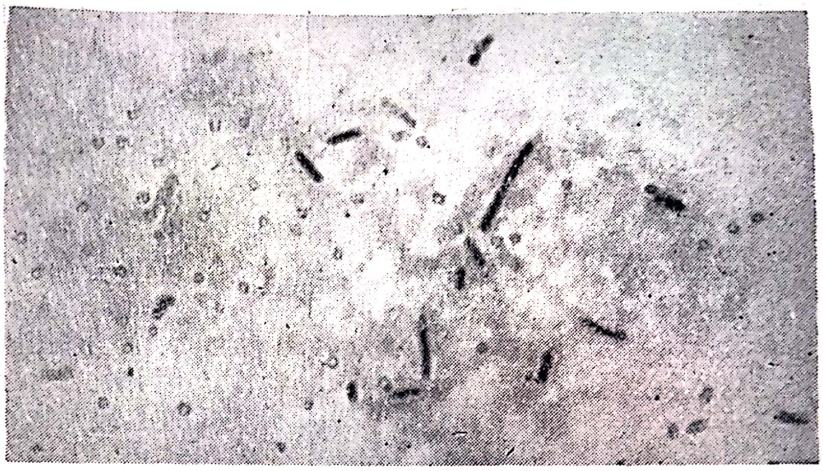


Fig. 128 — Clostridium chauvoei
Colorație: Gram

mente. Sporii iau naștere atît în culturi, cît și în țesuturile animale; ei sînt situați central sau subterminal și prezența lor deformează celula bacteriană. Bacilul este mobil; cilii, în număr de 6—8, sînt dispuși peritrich; ei imprimă bacilului o mobilitate vie, care nu este inhibată de prezența oxigenului.

Nu formează capsulă.

Gram pozitiv; în culturi vechi, numeroase elemente nu rețin culoarea Gram. Se colorează cu toate culorile bazice de anilină.

Ecologie. Bacilul nu a putut fi izolat din pămînt; Zeissler și colaboratorii au examinat, din acest punct de vedere 200 de probe de pămînt, recoltate din diferite regiuni europene, fără a-l putea izola vreodată. Minett și Dhanda (1942) afirmă că bacilul nu se multiplică în sol. Dacă, cu privire la multiplicarea bacilului în sol, nu există date certe, ele există însă cu privire la conservabilitatea sa. Majoritatea cercetărilor consideră că *Cl. chauvoei* rezistă cel puțin 10 ani în sol. Satko și Kornilova (1955), în vederea stabilirii rezistenței bacilului au îngropat cobai morți de cărbune emfizematos la o adîncime de 1—50 cm într-un sol podzolic, acid (pH 4,7—5,4) și dezgropîndu-i după 5 ani nu au mai găsit *Cl. chauvoei* nici în resturile cobailor și nici în solul din jur sau în vegetația solului. Stamatin și colaboratorii, urmărind același scop, au dispersat, pe suprafața diverselor soluri recoltate din R.P.R. și în prealabil sterilizate, suspensii dense de bacili. Culturile din aceste soluri au fost pozitive după 6 luni.

Cl. chauvoei se găsește și se izolează din tumorile emfizematoase spontane ale bovinelor, ovinelor, caprinelor și suinelor.

Rezistență. Rezistența sporilor este însemnată; astfel, ei se conservă ani de zile în praful rezultat din uscarea și triturarea tumorilor emfizematoase. Fenomenele de putrefacție nu le alterează viabilitatea. Unii autori au izolat bacilul din cadavrele animalelor moarte de cărbune simptomatic și îngropate de 3 luni. În bălegar, se conservă pînă la 6 luni. Sporii rezistă perfect la 70°C și țesuturile putrefiate, care conțin acești spori, pot fi încălzite la această temperatură înainte de însămînțare, înlesnind astfel izolarea bacilului. Sporii culturilor tinere (24 de ore) sînt distruși în 30 de minute la 70°C; sporii din culturile vechi (4 zile sau mai mult) rezistă 2 ore la 80°C și 3 minute la 100—105°C.

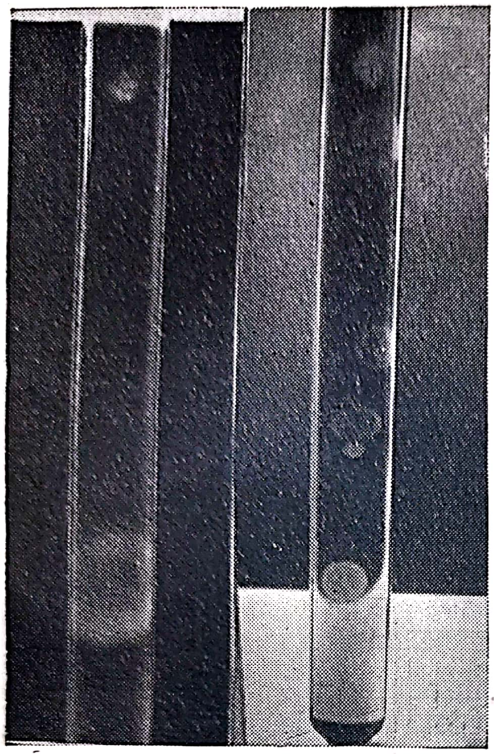


Fig. 129 — Clostridium chauvoei

Aspecte culturale în genoză Veillon cu ser; *stînga* — genoză Veillon cu ser normal; *dreapta* — genoză Veillon cu ser antichauvoei

Caractere culturale. Bacilul se dezvoltă abundent, cu producție de gaz, în bulion glucozat cu ficat sau cu carne. Mediul se tulbură uniform în prima zi; în zilele următoare se clarifică treptat, constituindu-se un depozit abundent.

pH-ul influențează în mod evident multiplicarea bacilului. În medii ușor acide sau chiar neutre, germenul nu se dezvoltă. Mediile alcaline, pH 7,8—8,2 îi convin cel mai mult.

Nu se dezvoltă, de obicei, în geloză profundă cu sau fără glucoză; Weinberg și Mihăilescu afirmă că unele tulpini dau însă, în acest mediu, colonii mici, punctiforme. Bacilul se dezvoltă în bune condiții în geloză Veillon cu ser normal de mamifer; cultura este răspîndită în tot mediul, respectînd zona superficială care conține oxigen; nu se pot obține însă în acest mediu colonii izolate, deoarece în tuburile însămînțate cu diluții mari cultura apare inițial într-o regiune, dar apoi se întinde în tot tubul, mediul devenind ușor opac. În mediile cu o concentrație mare de geloză cultura nu difuzează și coloniile sînt în consecință izolate, opace, mici, de formă neregulată. În geloză profundă cu ser antichauvoei răspîndirea bacililor în tot mediul este împiedicată din cauză că serul imun paralizează cilii și deci mobilitatea bacililor; într-un asemenea mediu bacilul dă colonii mici punctiforme sau colonii mari, perfect sferice, cu diametrul variind de la 2 la 5 mm și avînd aspectul unui puf de păpădie.

Pe mediul lui Zeissler, bacilul constituie colonii rotunde sau cu forma unei frunze de viță de vie, înfundate în mediu și înconjurate de o slabă zonă de hemoliză.

Proprietăți biochimice. Bacilul atacă glucoza, maltoza, levuloza, lactoza și galactoza; fermentează inconstant zaharoza și salicina. Nu atacă manita și salicina. Produce urme de indol.

Nu lichefiază serul coagulat, dar topește gelatina.

Se dezvoltă abundent în mediul cu creier, dar nu-l înnegrește.

Majoritatea tulpinilor coagulează încet laptele, în 2—40 de zile; unele tulpini îl coagulează tot așa de repede ca și vibrionul septic. Coagulul format este de obicei nespongios și acoperit cu o cantitate mică de zer.

Structură antigenică. Unii autori afirmă că în cadrul speciei *Cl. chauvoei* nu există decît un singur tip serologic, toate tulpinile fiind aglutinate de un ser preparat cu una din ele. Weinberg și colaboratorii săi au găsit totuşi, printre 30 de tulpini examinate, una care nu era aglutinată de un ser antichauvoei. Se afirmă de unii cercetători că tulpinile de tip bovin se disting serologic de cele izolate de la oaie; cele două tipuri au un antigen specific flagelar, deci termolabil şi un antigen comun somatic, deci termostabil. Unele tulpini de *chauvoei* au antigeni comuni cu vibrionul septic.

Serul aglutinant antichauvoei se obţine pe cal sau iepure; injecţiile, în vederea imunizării, se fac pe cale intravenoasă, cu culturi integrale încălzite 1 oră la 60°C sau bacili spălaţi prin centrifugare. Serul obţinut poate fi aglutinant şi precipitant.

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Cl. chauvoei este toxic şi virulent, procesul morbid fiind însă dominat de capacitatea sa toxică; astfel, sporii fără toxină sînt inofensivi, în timp ce toxina singură este patogenă. Toxina favorizează multiplicarea bacililor în ţesuturi; o acţiune favorizantă asemănătoare toxinei au şi unele substanţe — acidul lactic — sau unele bacterii — stafilococul piogen.

Tulpinile patogene de *Cl. chauvoei* pierd repede această însuşire, mai ales dacă sînt frecvent trecute pe medii artificiale de cultură.

Filtratul culturilor tulpinilor patogene conţine hemolizine, toxine propriu-zise şi agresine.

Hemolizinele se găsesc în culturile tinere; ele sînt fragile; oxigenul le inactivează; la 52°C se distrug în 5—10 minute. Faţă de globulele roşii ale diverselor specii animale se comportă ca şi hemolizinele secretate de vibrionul septic. Hemolizează, în doze mici, 0,01—0,1 ml globulele roşii de cobai (şase filtrate active din şapte examinate) şi neregulat globulele roşii de iepure (şase filtrate active din şapte examinate), de oaie (cinci filtrate active din şapte examinate), de cal (trei filtrate active din şapte examinate) şi de bou (trei filtrate active din şapte examinate).

Toxina a fost pusă în evidenţă, în filtrele culturilor patogene, de numeroşi cercetători. Toxicitatea filtratelor variază în limite largi de la o tulpină la alta. Filtratul tulpinilor patogene de *Cl. chauvoei* se comportă, faţă de animalele de experienţă, ca şi filtratele active de vibrion septic; injectat pe cale intravenoasă, în doză variind de la 0,5 la 2 ml, el omoară cobaiul în 10 minute — 12 ore; pe cale subcutană cobaiul este omorît în 1—3 zile, cu 4 ml de filtrat. Injectată pe cale intradermică, în doză de 0,1—0,2 ml produce la cobaii albi o necroză locală circulară, cu diametrul de 4—5 mm.

Şoarecele este foarte sensibil; filtratul unei culturi în bulion glucozat, de 18—36 de ore, omoară şoarecele, pe cale intravenoasă, într-un timp care variază de la cîteva minute, la cîteva ore. 1 ml de filtrat poate conţine 40—60 d.m.l. de şoarece pe cale intravenoasă. Pe cale subcutană, toxina este mult mai bine suportată de şoareci şi, pe această cale, ei pot suporta 75—100 sau chiar mai multe doze minime letale intravenoase.

Elementul toxic dintr-un filtrat este suficient de fragil; el pierde din activitatea sa prin încălzire la 55°C şi devine aproape complet inactiv după o încălzire la 100°C.

Unii cercetători au observat și ei că prin încălzire la 70°C toxina chauvoei pierde proprietatea hemolitică pe care însă și-o poate recăpăta încălzind-o 5 minute la 100°C. Toxina se regenerează prin încălzire la această din urmă temperatură. Încălzită timp de 1 oră la 100°C, toxina devine complet inactivă. La termostat toxina se atenuează după 18—24 de ore, iar la ghețar activitatea sa începe să scadă după 5 zile. Lumina solară directă o distruge în 2—3 ore. Toxina precipită sub acțiunea sulfatului de amoniu; precipitatul uscat și pulverizat conservă în vid, timp îndelungat, activitatea toxică inițială. Sub influența formolului se transformă, ca și alte exotoxine, în anatoxină. Detoxificarea, sub acțiunea formolului, se face într-un timp scurt, 5—7 zile, și cu atît mai repede cu cît formolul s-a adăugat în concentrație mai mare. În proporție de 4‰ formolul distruge patogenitatea toxinei în 3—5 zile la 37°C. Activitatea hemolitică însă se conservă.

Infecția experimentală. *Cobaiul.* Cultura integrală omoară regulat, dar nu constant, cobaiul; Weinberg și Davesne constată că din 31 de cobai inoculați cu cîte 1 ml de cultură de 48 de ore în bulion, 6 au rezistat infecției, 9 au murit în 24 de ore după inoculare, 10 după 48 de ore, 3 după 3 zile și 3 după 4 zile. În R.P.R. s-au izolat însă tulpini care omoară constant cobaiul. Injecția subcutană sau intramusculară a unei doze mortale de cultură este urmată de apariția unui edem inflamator dureros și crepitant; starea generală a animalului se înrăutățește pe măsură ce tumefacția locală crește; cobaiul stă ghem în cușcă; părul din regiunea infectată se smulge cu ușurință. Local, la autopsie, se constată, cînd boala a durat mai mult timp, o escară; țesutul conjunctiv subcutan și intermuscular este infiltrat cu un lichid roz; mușchii sînt disociați și de culoare roșie; leziunea degajă un miros rînced; edemul produs de *Cl. chauvoei* este, prin comparație cu cel produs de vibrionul septic, mai hemoragic; ganglionii aferenți sînt tumefiați. În cavitatea peritoneală se găsește un lichid roz; intestinele sînt congestionate; stomacul este uneori rupt. Bacilii, în general izolați, se găsesc în mare număr în tumefacția locală și în serozitatea peritoneală. Hemoculturile din cord sînt pozitive. Cobaiul poate fi infectat pe cale intravenoasă; administrările per os sînt negative chiar dacă sînt asociate cu traumatisme musculare.

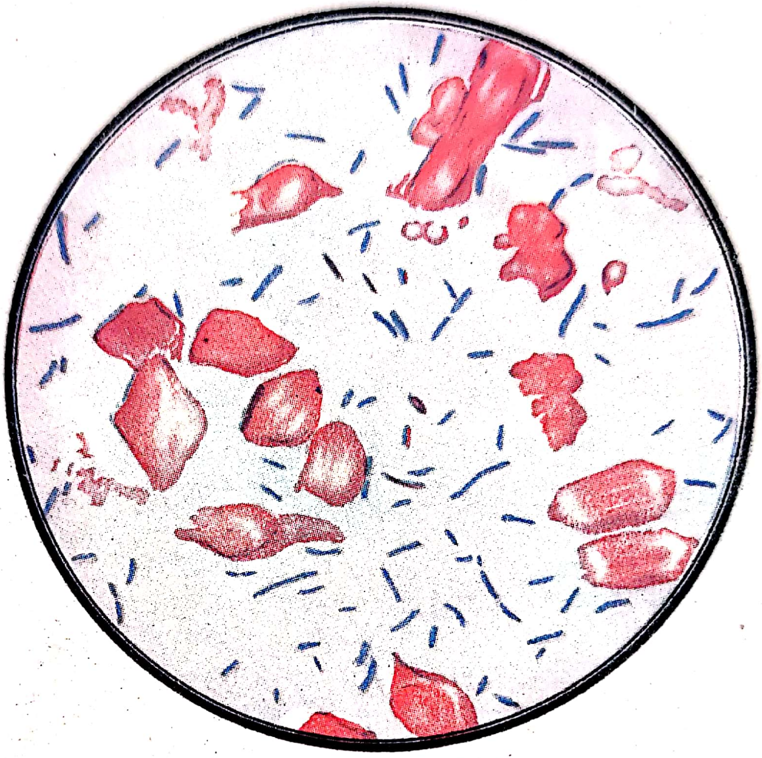
Iepurele este socotit de unii cercetători ca refractar față de *Cl. chauvoei.* S-a constatat însă că tulpinile foarte virulente infectează iepurele.

Șobolanul este foarte rezistent; injecțiile subcutane sau intramusculare produc o tumefacție locală vindecabilă.

Porumbelul, după cercetările lui Șoima, poate fi infectat cu culturi de *Cl. chauvoei* patogene pentru cobai; majoritatea porumbeilor infectați mor după cîteva ore sau 1—3 zile după infecție, dar unii rezistă. Leziunea locală constă dintr-un edem gelatinos și hemoragic; organele interne sînt congestionate; uneori se observă puncte necrotice pe ficat. În cavitatea peritoneală nu se găsește exudat. Porumbelul este, în general, mai rezistent față de *Cl. chauvoei* decît față de vibrionul septic.

Boul este receptiv și cantități reduse de germeni injectați pe cale subcutană sau intramuscular provoacă infecția. Viței în experiențele lui

PLANȘA XIII



Clostridium chauvoei
Frotiu de pe suprafața ficatului, de la cobai infectat experimental. Colorație: Gram (desen: *Cerni*)

Mamedov (1952) mor la 47 de ore după injecţia unei doze de 5 ml de cultură în bulion cu carne. Leziunea locală se dezvoltă cu atît mai repede cu cît cultura a fost depusă într-o regiune mai bogată în ţesut conjunctiv. Doze mari de cultură (6 ml sau mai mult) infectează boul pe cale intravenoasă ; se produc în acest caz leziuni ale arterei pulmonare, precum şi endocardite ale auriculului drept.

Bivolul pare a fi receptiv. Mamedov (1952) a produs o infecţie mortală, în 69 de ore, la un malac în vîrstă de 18 luni, cu 7 ml de cultură. Nicolau (1894) afirmă însă că bivolul e destul de rezistent faţă de infecţia experimentală.

Oaia este foarte receptivă. Tulpinile patogene omoară, în aceeaşi doză, cobaiul şi oaia. Doza de 0,5 ml omoară oaia în 2—3 zile. Dozele mai mari, 2—3 ml, injectate pe cale intramusculară, provoacă o gangrenă locală, mortală, în mai puţin de 24 de ore. La autopsie se constată, pe lîngă edemul şi gangrena locală, leziuni hemoragice pe cord, pete necrotice pe ficat, congestia masei intestinale etc.

Calul este rezistent şi inoculările subcutane produc doar o tumefacţie locală, vindecabilă.

Porcul este rezistent.

Cîinele, pisica, găina şi *raţa* sînt rezistenţi.

Infecţia naturală

Bacilul produce la bovine şi ovine o infecţie cunoscută sub numele de cărbune emfizematos sau simptomatic *(Gangrena emphysematosa)*. Se admite de unii autori că tulpinile care infectează bovinele diferă de cele care infectează oile. Diferenţele ar fi de ordin patogenic (tulpinile bovine sînt mai patogene pentru cobai ca cele ovine), serologic şi epizootologic (în regiunile cu cărbune emfizematos la bovine nu se observă, totdeauna, aceeaşi infecţie şi la oi şi invers).

Infecţia este cunoscută de multă vreme şi a fost identificată ca entitate morbidă şi descrisă pentru prima oară, de Bollinger, în 1875.

Arie geografică. Cărbunele bacterian este răspîndit pe toată suprafaţa pămîntului. El a fost semnalat în Indochina ca şi în aproape toate ţările europene. Pagube însemnate produce în Elveţia. Astfel, după Hunziker (1926), într-o singură circumscripţie au murit în interval de 40 de ani (1882—1926) 1 340 de animale. Unele regiuni ale R.P.R. sînt puternic infectate. Cazuri mai frecvente se întîlnesc în regiunile de munte din Muntenia, Oltenia şi Transilvania, precum şi în unele regiuni de deal din Moldova ca : Iaşi, Vaslui, Galaţi.

În Bărăgan şi Cîmpia Dunării — zonele de Sud ale regiunii Craiova — se semnalează de asemenea infecţia. Răspîndirea infecţiei pare a fi în legătură cu structura solului şi Hunziker (1926) afirmă că infecţia este absentă în zonele cu sol lipsit de calciu şi prezentă în cele care au un sol calcaros.

Specii receptive. *Cl. chauvoei* este patogen pentru bovine şi ovine şi după unii autori şi pentru porc. Alţi autori consideră însă porcul refractar.

Bivolul este receptiv (Mamedov, 1952). Capra este receptivă. Într-o circumscripție elvețiană s-au semnalat, în decurs de 40 de ani, 23 de cazuri la oaie și 56 la capre.

Cazuri de infecții produse de *Cl. chauvoei* au fost semnalate și la mamiferele marine. Riegler (1914) a constatat un caz la o morsă în captivitate. Infecția, la acest animal, a avut, ca punct de plecare, o plagă situată în regiunea mamară și s-a dezvoltat sub forma unei tumori situate în țesutul conjunctiv, subcutan și muscular. Un anaerob, avînd caracterele speciei *Cl. chauvoei*, a fost izolat din tumoarea musculară și din bilă. Cultura omoară cobaiul în 28—48 de ore.

Omul este refractar.

Etiologie. Boala a fost și este încă și astăzi considerată, de mulți cercetători, ca o infecție monomicrobiană adică produsă de un singur anaerob, și anume de *Cl. chauvoei*. Winberg și Mihăilescu, precum și alți cercetători, făcînd examenul bacteriologic al tumorilor emfizematoase, găsesc în ele ca și în gangrenele gazoase traumatice o floră variată, din care *Cl. chauvoei* nu face totdeauna parte. În urma acestor constatări ei au admis că infecția emfizematoasă este o traumatoză polimicrobiană. Ea poate fi produsă de *Cl. chauvoei*, dar și de alți anaerobi, și, în special, de vibrionul septic. Strînsa înrudire dintre *Cl. chauvoei* și vibrionul septic, pusă în evidență de Weinberg și Mihăilescu, ar face după autori și mai plauzibilă această ipoteză. Această argumentație nu este însă suficient de convingătoare. Într-adevăr, prezența altor germeni decît *Cl. chauvoei* în tumorile emfizematoase, nu este contestată ; se contestă însă rolul celorlalți anaerobi în etiologia bolii. Se constată, într-adevăr pe de o parte, că din tumorile proaspete se izolează aproape exclusiv numai *Cl. chauvoei*, iar pe de altă parte, că în organele animalelor moarte de alte infecții sau sacrificate, se pot găsi anaerobi și, în special vibrionul septic, care invadează organismul după moarte. Cu cît deci recoltarea materialului se face mai tîrziu după moarte, cu atît există mai multe posibilități de a izola și alți anaerobi de cît *Cl. chauvoei*. Ipoteza etiologiei polimicrobiene nu este deci suficient demonstrată. Uniciștii se sprijină în afirmațiile lor și pe faptul că vaccinurile preparate numai cu *Cl. chauvoei* imunizează animalele față de cărbunele emfizematos, ceea ce constituie un argument valabil.

Epizootologie și patogenie. Cărbunele emfizematos este o boală de teren și apare în mod obișnuit vara, cînd animalele sînt la pășune. Anumite terenuri conservă bacilul, în timp ce altele îi sînt total defavorabile și germenii împrăștiați dispar din ele. Acest mod de comportare a terenului față de *Cl. chauvoei* explică inegala răspîndire a bolii pe suprafața pămîntului, precum și constanta ei apariție pe anumite pășuni, și în special pe cele din solurile calcaroase.

Boala apare frecvent la pășune și mai rar la grajd: 10—20% din totalul cazurilor de boală apar la grajd, restul la pășune.

Animalele tinere sînt sensibile, în timp ce vitele bătrîne sînt practic refractare. Receptivitatea cea mai mare se întîlnește la tineretul în vîrstă de 1—2 ani ; viţeii sub 1 an ca și animalele care au depășit vîrsta de 2 ani sînt mai puțin receptive.

Tumorile emfizematoase ale bovinelor și ovinelor, spre deosebire de gangrenele gazoase traumatice, nu au comunicări evidente, prin piele, cu mediul exterior. Germenii din tumorile de cărbune emfizematos nu au pătruns în organism printr-o largă poartă de intrare creată accidental, ci au ajuns acolo pe cale hematogenă. Pielea regiunii în care s-a dezvoltat tumoarea este într-adevăr, integră. Germenii, de cele mai multe ori, pătrund întîi în tubul digestiv și de aici, printr-o soluție de continuitate trec în circulația generală, de unde se fixează în țesuturi. Unii autori afirmă, sprijinindu-se pe constatarea că infecția este mult mai frecventă la animalele tinere ca la cele bătrîne, că bacilii ar pătrunde în circulația generală prin porțile de intrare create de căderea dinților de lapte. Paraziții care în decursul evoluției lor trec din tubul digestiv în organism ar putea vehicula germenii. Tumoarea emfizematoasă poate avea accidental și o origine cutanată ; germenii pătrunzînd prin zgîrieturi ale pielii, ei însă nu produc tumoarea de obicei în dreptul porții de intrare, ci în altă regiune.

Infecția se poate transmite și prin insecte hematofage. Satko (1950) a constatat, de exemplu, că tăunii infectați transmit boala în condiții experimentale la cobai și viței.

Fixarea germenilor din circulația generală în țesuturi este condiționată de o anumită stare de receptivitate a acestora. Prezența germenilor în sînge nu asigură totdeauna apariția infecției. Experimental, într-adevăr, boala nu poate fi reprodusă nici pe cale digestivă și nici chiar pe cale intravenoasă. Bacilii nu se fixează în țesuturile normale, ci în cele care prezintă tulburări circulatorii create de diverse traumatisme.

Temperatura influențează apariția infecției. Temperatura ridicată a verii, creează condiții favorabile apariției bolii. Temperatura regiunii corporale în care au pătruns germenii decide dezvoltarea tumorii. Dacă această temperatură nu este suficient de ridicată bacilii nu se dezvoltă. S-a arătat într-adevăr, că inocularea bacililor patogeni în vîrful cozii — regiune de obicei rece — la bovine, nu reproduce infecția decît dacă coada este astfel învelită încît temperatura locală să fie suficient de ridicată. La oaie infecția poate fi reprodusă în aceleași condiții, fără a lua asemenea măsuri de precauție, pentru că lîna cozii asigură regiunii o temperatură suficient de ridicată.

Cărbunele emfizematos al ovinelor diferă prin patogenia și după unii autori prin etiologia sa, de al bovinelor. La oi, infecția se face aproape regulat, printr-o poartă cutanată de intrare, creată accidental. Boala apare și are un caracter exploziv în urma tunsului, castratului etc., operații care deschid largi porți de intrare. Mușcăturile de cîine sînt frecvent urmate de apariția cărbunelui emfizematos.

Evoluția infecției. Clinic, infecția se caracterizează prin formarea unor tumori gazoase, crepitante în regiunile cu mari mase musculare: coapsă, crupă, spată, gît, mușchi maseteri, limbă etc. Constituirea tumorii poate fi precedată de pierderea poftei de mîncare și de o stare generală rea. Infecția nu este constant febrilă. În unele cazuri, temperatura poate atinge 42°C, în altele ea este total normală. Temperatura scade sub normal scurt timp înaintea morții.

Edemul este iniţial dureros şi cald; mai tîrziu centrul său devine rece şi insensibil. Tumoarea, din cauza gazelor pe care le conţine, este crepitantă. Gazele din tumoare au un miros acru-dulceag de acid butiric.

Paralel cu dezvoltarea tumorii se observă tulburări cardiace şi respiratorii; pulsul este accelerat, respiraţia dispneică.

Boala durează 24—60 de ore; animalele foarte tinere pot muri înainte de 24 de ore, iar la cele bătrîne boala poate dura pînă la 8 zile.

Mortalitatea în cărbune emfizematos este de 100%.

Modificări anatomice. Fenomenele de putrefacţie apar tîrziu la cadavrele animalelor moarte de cărbune emfizematos. Pielea care acoperă regiunea tumorii este normală, şi numai rareori mortificată. Ţesutul conjunctiv subcutan al regiunii este infiltrat cu gaze şi cu lichide de culoare galbenă-citrin sau hemoragică. Lichidul, din cauza gazelor pe care le conţine, este spumos. Aceeaşi infiltraţie se observă şi în ţesutul conjunctiv intermuscular. Muşchii sînt zemoşi, infiltraţi cu lichide sau uscaţi. Pe secţiune, culoarea lor este brună-murdar sau roşie-vişinie, hemoragică, deosebindu-se uşor de culoarea muşchiului normal. Ganglionii aferenţi sînt hemoragici.

Pe seroasele cavităţii toracice — pleură, pericard şi epicard — se observă frecvent depozite fibrinoase. Pulmonul este de multe ori emfizematos. Pe ficat şi în ficat se observă uneori focare necrotice de culoare galbenă-gri, bine circumscrise şi care nu sînt înconjurate de un ţesut inflamator, ceea ce constituie, după unii autori, o indicaţie că focarele se produc după moarte. Aceste focare au la animalele autopsiate cîteva ore după moarte mărimea unui bob de mazăre, iar la cele autopsiate după 1—2 zile, mărimea unui măr. Ţesutul hepatic şi-a păstrat în aceste focare structura, însă celulele, datorită proceselor la cromatoliză şi carioliză, şi-au pierdut nucleii. Bacilii numeroşi se găsesc în parenchimul ficatului, ca şi în arteriole şi limfatice.

Diagnostic. Tumoarea produsă de *Cl. chauvoei* se deosebeşte de edemul gelatinos provocat de bacteridia cărbunoasă, prin aceea că acesta din urmă este mereu cald şi nu conţine gaze, nu este crepitant la palpaţie.

Infecţia emfizematoasă, din cauza evoluţiei ei rapide, este diagnosticată de cele mai multe ori, nu prin mijloace clinice, ci bacteriologice şi anatomo-patologice. *Cl. chauvoei* se izolează frecvent singur din organe. Mediul de cultură care dă cele mai bune rezultate este bulionul cu carne glucozat. Materialul suspect poate fi inoculat, în vederea diagnosticului, la animale de experienţă, de preferinţă cobaiul. Rezultatele nu sînt însă totdeauna satisfăcătoare şi nu permit izolarea agentului specific, pentru că, după cum s-a amintit, acesta poate fi asociat în tumoare cu alţi anaerobi şi în special cu *Bac. perfringens* şi vibrionul septic, germeni care omoară cobaiul înainte ca *Cl. chauvoei* să se poată multiplica. Se obţin rezultate mai bune inoculînd acest material, la cobaii imunizaţi activ sau pasiv, faţă de anaerobii pe care vrem să-i eliminăm din material, şi anume faţă de vibrionul septic şi *Bac. perfringens*, şi eventual şi faţă de *Cl. oedematiens*.

Tratament şi profilaxie. Tratamentul cărbunelui emfizematos este rar aplicat de practicieni, din cauza rapidei evoluţii a bolii. Se recomandă drept tratament incizia tumorii, spălături cu antiseptice şi, mai ales injecţii cu ser imun.

Protejarea animalelor din regiunile în care boala este enzootică se realizează în bune condiţii, prin imunizări active. Arloing, Cornevin şi Thomas (1884) au preparat din tumorile emfizematoase experimentale ale bovideelor un vaccin care s-a aplicat mult timp şi a dat bune rezultate. Tumoarea era tocată, uscată la 37°C, şi apoi transformată în pulbere fină. Pulberea pusă în suspensie în apă se încălzea, în vederea atenuării şi obţinerii unui prim vaccin, timp de 7 ore la 100—104°C, iar pentru al doilea vaccin, 7 ore la 85—90°C. Preisz încălzea praful muscular timp de 6 ore la 100°C, iar Kitt, 6 ore la 85—90°. Materialul, în vederea inoculării vaccinale, se amestecă cu apă distilată în proporţie de 1/5; din această suspensie se inocula la fiecare animal, subcutan, în regiunea spetei sau pe faţa inferioară a cozii, cîte 0,5 ml. A doua inoculare se făcea 10—12 zile mai tîrziu. Rezultatele au fost în linii generale bune: accidentele şi insuccesele nu au lipsit însă; primele erau datorite prezenţei în vaccin a sporilor altor clostridii anaerobe şi patogene decît *Cl. chauvoei;* iar ultimele absenţei în materialul vaccinat a agentului specific; unele preparate conţineau spori de *Bac. perfringens,* de vibrionul septic, dar nu spori de *Cl. chauvoei;* asemenea vaccinuri nu imunizau animalele faţă de cărbunele emfizematos. Aceste inconveniente cît şi greutăţile de preparare şi costul ridicat al vaccinului au dus la cercetarea şi găsirea unor metode mai avantajoase de vaccinare.

O serie de autori au întrebuinţat pentru vaccinarea animalelor contra cărbunelui emfizematos filtratele culturilor de *Cl. chauvoei,* care, aşa cum a arătat Roux (1888), au o însemnată capacitate imunizantă. Bacilii, în vederea obţinerii filtratelor imunizante, se cultivă în bulion cu fosfat de sodiu şi glucoză, la care se adaugă fragmente de ficat şi se sterilizează prin trei încălziri succesive, de cîte 1 oră la interval de 24 de ore, la temperatura de 110—115°C. Glucoza în soluţie sterilă se poate adăuga mediului şi după sterilizare. pH-ul final este ajustat la cifra de 8,4. Cultura obţinută este abundentă şi mediul, după o incubaţie de 8 zile, se acidifică; pentru a înlesni o nouă multiplicare a bacililor se adaugă mediului o nouă cantitate de glucoză şi pH-ul se reajustează la o valoare convenabilă. Operaţia se repetă a treia oară după alte 8 zile. Filtrarea culturii se face prin Seitz, după o incubaţie de 3 săptămîni. Puterea vaccinantă a filtratelor astfel obţinute este remarcabilă; ea se conservă timp de cîţiva ani şi nu se pierde printr-o încălzire de 30 la 100°C. Doza vaccinantă pentru un bou este de 5—10 ml.

Leclainche şi Vallée (1925) recomandă pentru imunizarea solidă a bovideelor două vaccinuri: primul este un filtrat amicrobian formolat, 0,2—0,4% şi păstrat 24 de ore la 37°C, al doilea este o cultură integrală în care eventual numărul germenilor a fost concentrat prin centrifugare şi care este formolată în aceleaşi condiţii ca şi filtratul. Tulpinile folosite pentru prepararea celor două vaccinuri trebuie să fie cît mai variate ca origine şi de o cît mai mare putere patogenă. După aceşti autori, culturile integrale formolate imunizează atît cobaii, cît şi bovideele.

In R.P.R. se folosesc pentru vaccinarea bovideelor contra cărbunelui emfizematos anaculturi de *Cl. chauvoei.* În condiţii experimentale, aşa cum au arătat Ungureanu şi Sîrmon (1950) ele imunizează cobaii şi oile. Cobaii, injectaţi în două rînduri, la 7 zile interval, respectiv cu 1 şi 2 ml de vaccin, rezistă 14 zile după ultima injecţie, la 4—6 d.l.m. de cultură integrală (2—3 ml dintr-o cultură care omoară martorii în doză de 0,5 ml).

Oile injectate similar, de două ori, cu cîte 5 ml de vaccin, rezistă la o probă de control făcută 14 zile după ultima injecţie, cu 6 d.l.m (3 ml dintr-o cultură care omoară oaia nevaccinată în doză de 0,5 ml).

BIBLIOGRAFIE

ARLOING, CORNEVIN şi THOMAS. — Le charbon symptomatique du boeuf. Paris, 1887.

CHAMSY M. şi BAYNAND M. — Extracţia toxinei de Cl. chauvoei din corpii microbieni. *Ann. Inst. Pasteur,* 1951, 81, p. 90.

HUNZIKER R. — Cercetări asupra apariţiei cărbunelui emfizematos în circumscripţia Frutigen şi relaţiile sale cu conţinutul pămîntului în calciu. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Berna, 1926.

LECLAINCHE E. şi VALLÉE H. — Vaccinarea contra cărbunelui simptomatic. *C. R. Soc. Biol.,* 1925, 92, p. 1273.

MAMEDOV T. A. — Despre cărbunele emfizematos al bivolilor. *Veterinaria,* 1952, nr. 11, p. 30.

MIHAILESCU M. — Problema edemelor gazoase la bovidee. *Al XII-lea Congres Internaţional de medicină veterinară,* New-York, 1934, vol. 2, p. 201.

NICOLAU P. — Imunitatea naturală a bivolului la cărbunele bacterian. *Teză Şc. sup. med. veterinară,* 1894.

MINETT F. C. şi DHANDA M. R. — Multiplicarea B. anthracis şi Cl. chauvoei în sol şi în apă. *Indian J. Vet. Sci.,* 1942, 11, p. 308.

ROUX E. — Imunitatea contra cărbunelui simptomatic conferită prin substanţe solubile. *Ann. Inst. Pasteur,* 1888, 2, p. 49.

SATKOV D. F. — Rolul tăunilor în transmiterea cărbunelui emfizematos la vitele cornute mari. *Veterinaria,* 1952, nr. 7, p. 28.

SPIEGEL A. — Cercetări asupra cărbunelui emfizematos la oaie. *D.T.W.,* 1920, p. 215 şi p. 467.

STAMATIN N., LUNGU I., BICA POPII V. şi RĂDUCĂNESCU H. — Rezistenţa speciilor E. rhusiopathiae şi Cl. chauvoei în diferite soluri din R.P.R. *Sesiunea de referate a Institutului Agronomic „N. Bălcescu“,* martie, 1956.

UNGUREANU C. şi SIRMON E. — Valoarea imunizantă a anaculturilor de Cl. chauvoei pentru cobai şi oi. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1950, 2, p. 68.

WEINBERG M. şi MIHAILESCU M. — Cercetări asupra cărbunelui simptomatic şi a B. chauvoei. *Ann. Inst. Pasteur,* 1929, 43, p. 1408.

Clostridium oedematis maligni Bergey et. al., 1923

Sinonime: Vibrion septique Pasteur şi Joubert, 1877. Oedembacillus Koch, 1881. *Bacillus oedematis maligni* Zopf, 1885. *Bacillus septicus* Macé, 1888. *Bradsotbacillus* Jensen, 1897. *Pararauschbrandbacillus* Miessner, 1922. *Clostridium septicum* (Macé) Ford.

Pasteur şi Joubert, 1877, găsesc acest bacil, în sîngele putrefiat al unei vaci, îl cultivă şi îi descriu caracterele morfologice; ei constată, în acelaşi timp, patogenitatea culturii pentru animalele de laborator, la care produce septicemii, de unde numele de vibrion septic pe care i-l dau. Koch, în 1881, izolează un anaerob pe care îl consideră identic cu cel descris de Pasteur şi Joubert, dar pe care îl numeşte *Oedembacillus,* pentru motivul că, după Koch, patogenitatea la animale nu se manifestă printr-o septicemie, ci prin constituirea unui edem la locul de inoculare. Studiul celor două tulpini a fost incomplet, astfel că nu se poate preciza astăzi dacă într-adevăr cele două tulpini au fost sau nu identice. Cercetări comparative ulterioare nu s-au putut face, deoarece tulpina lui Koch nu s-a păstrat.

Anaerobul izolat de Pasteur şi Joubert a fost păstrat şi comparat ulterior cu alte tulpini de anaerobi patogeni, stabilindu-se altfel identitatea tulpinii lui Pasteur cu tulpinile izolate din unele cazuri de gangrenă gazoasă umană.

Caractere morfologice. Bacil polimorf; în culturile tinere, ca şi în lichidele şi ţesuturile animale se prezintă ca un bastonaş cu capetele rotunde, lat de 0,6—0,8 microni şi lung de 2—10 microni. Alături de formele bacilare cu diametrul transversal uniform se întîlnesc forme de navetă sau de lămîie. Bacilii pot constitui lanţuri scurte sau filamente; aceste din urmă formaţii se întîlnesc uneori în culturi, dar mai frecvent în lichidul peritoneal şi pe suprafaţa ficatului cobailor infectaţi experimental.

Vibrionul septic sporulează; sporii sînt situaţi central sau subterminal, şi iau naştere în culturi ca şi în ţesuturile animalelor infectate; mediile care în cursul multiplicării bacililor se acidifiază sînt puţin favorabile sporulaţiei. În bulionul glucozat, sporii apar după 24 de ore şi sînt

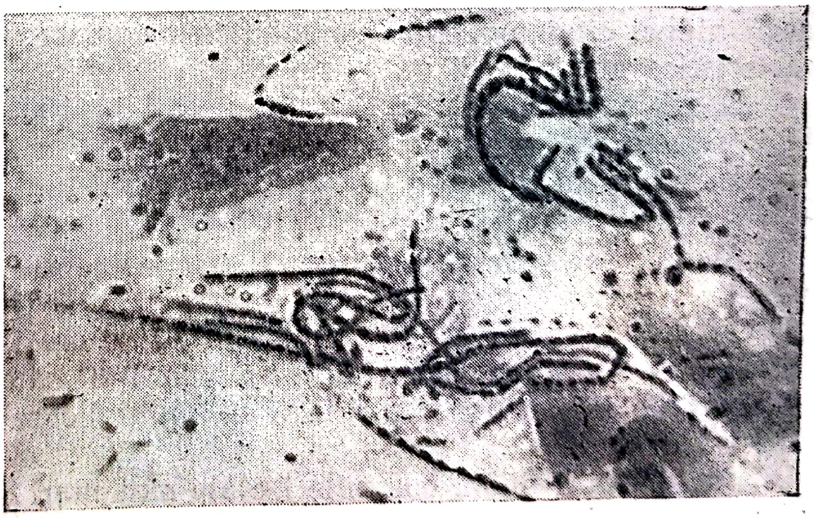


Fig. 130 — Clostridium oedematis maligni

Frotiu de pe suprafaţa ficatului de la un cobai infectat experimental

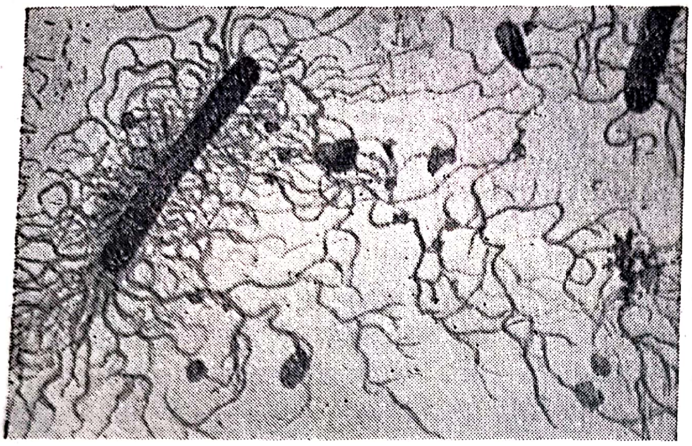


Fig. 131—Clostridium oedematis maligni; × 5 000

Cili peritrichi. Imagine electronică

numeroși după 3 zile de cultivare la 37°C.

Bacilul este mobil și prevăzut cu numeroși cili dispuși peritrich. Mobilitatea bacililor este foarte vie în culturile tinere, în medii bogate în materii proteice; mediile acide paralizează mobilitatea germenilor.

Vibrionul septic nu se încapsulează.

Bacilii, în culturile tinere, sînt Gram pozitivi; în culturile vechi, ei pierd în mare parte capacitatea de a reține culoarea Gram. Se colorează cu toate culorile bazice de anilină.

Habitat și rezistență. Se găsește, sub formă de spori în pămînt; Zeissler și Rassfeld l-au găsit în 15 probe din 200 examinate. Din pămînt este introdus cu apa și alimentele în tubul digestiv, de unde poate fi în mod constant izolat. Trece din tubul digestiv, în perioada agonică, sau după moarte, în organismul uman sau animal, putînd fi astfel frecvent izolat din cadavre.

Bacilii se pot găsi în sîngele și organele animalelor sănătoase, omorîte prin asfixiere; 6 ore după moarte, bacilii se găsesc în submucoasa stomacului și în sînge, iar după 10 ore în măduva oaselor. Această difuzie se face repede în sezonul cald și umed și încet la temperaturi scăzute. Izolarea vibrionului septic din organele unui animal nu poate constitui, din cauza acestei difuziuni, o dovadă că bacilul a fost implicat într-un proces patologic oarecare. Nu se poate trage o asemenea concluzie decît atunci cînd prezența bacilului în organe este însoțită de leziuni caracteristice acțiunii lui patogene.

Sporii vibrionului septic sînt omorîți la 100°C în 2—15 minute; la 80°C rezistă mai mult de 1 oră.

În tuburi închise sub vid, sporii conservă un timp îndelungat — peste 20 de ani — atît vitalitatea, cît și toxinogeneza.

Medii și caractere culturale. Vibrionul septic se dezvoltă abundent în mediile lichide, bulion de carne sau bulion de ficat; mediul se tulbură, cîteva ore după însămînțare, iar după 40 de ore începe a se clarifica, germenii constituind un depozit care ocupă 1/10 sau mai mult din înălțimea coloanei de lichid. În prima fază de multiplicare se constată o producție intensă de gaze.

În geloză Veillon, coloniile izolate sînt mari și au aspectul pufului de păpădie; pe lîngă aceste colonii, socotite tipice, se găsesc și colonii rotunde care, după o incubație variabilă, emit prelungiri laterale.

Proprietăți biochimice. Vibrionul septic coagulează laptele în 36 de

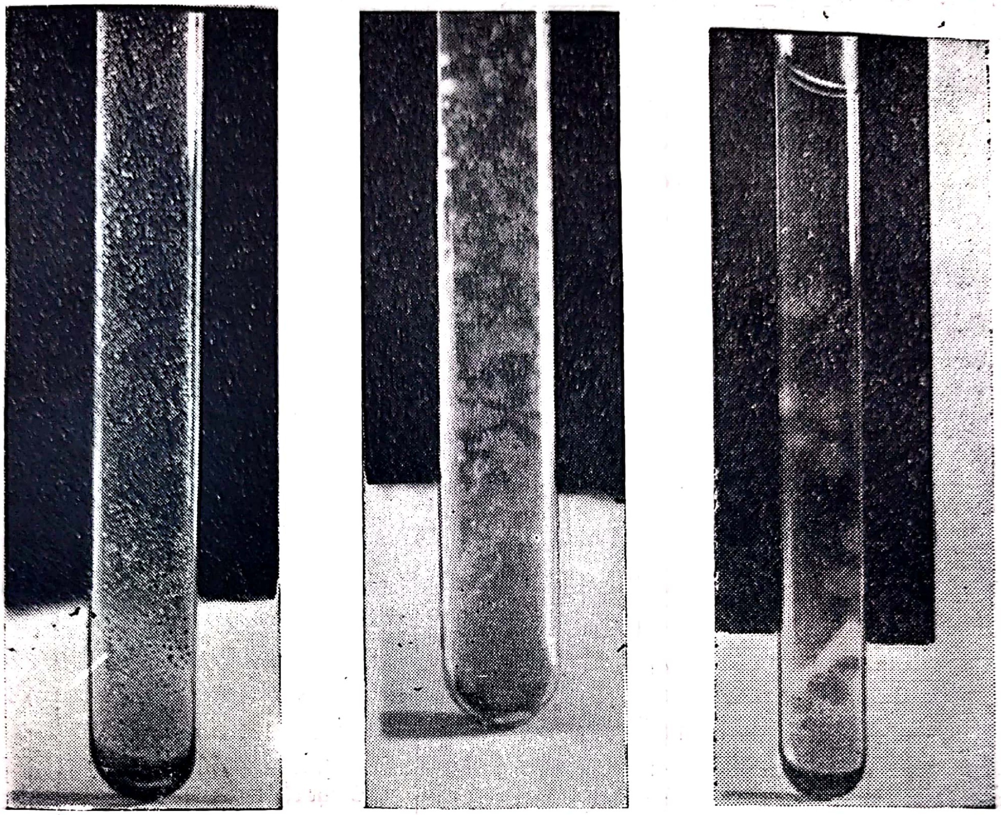


Fig. 132 — Clostridium oedematis maligni

Aspecte culturale în geloza Veillon

zile, dar nu lichefiază coagulul ; lichefiază gelatina, dar nu serul coagulat. Nu înnegreşte mediul cu creier ; produce însă o cultură de o culoare roşie delicată în straturile profunde ale mediului.

Nu produce indol. Produce amoniac, mai ales în bulionul cu tripsină sau în bulionul cu fragmente de rinichi.

Fermentează glucoza, galactoza, levuloza, lactoza, maltoza, salicina şi este inactiv faţă de glicerină, manită, dulcită, izodulcită, zaharoză şi inulină. Reduce albastrul de metilen, tinctura de turnesol şi indigosulfatul de sodiu.

Structură antigenică. Bacilul posedă, ca toate bacteriile mobile, antigeni somatici şi flagelari ; primii sînt termostabili, iar cei din urmă termolabili. Anticorpii flagelari respectivi provoacă o aglutinare de tip floconos, iar cei somatici de tip granular.

Seruri aglutinante mixte (H şi O) se obţin pe iepuri, la care se inoculează, intravenos, culturi vii sau moarte. Unii autori întrebuinţează, drept antigen, bacilii unei culturi în bulion glucozat de 24 de ore, pe care îi separă de mediul de cultură prin centrifugare şi îi pun în suspensie în apă fiziologică ; suspensia este încălzită 1 oră la 60°C ; injecţiile se fac la 3—4 zile interval, cu doze crescînde, 1, 2, 3, 4, 5, şi 5 ml. Sîngerarea se face la 4—5 zile după ultima injecție. Titrul serului variază de la 2 000 la 15 000.

Tulpinile de vibrion septic nu sînt identice din punct de vedere al structurii lor antigenice, somatice și flagelare. Prin seroaglutinare s-au identificat patru grupe serologice. Structura antigenică a tulpinilor dintr-o grupă este, în general, numai parțial și nu integral diferită de a altei grupe, astfel că un ser preparat cu tulpina unei grupe aglutinează într-o mai mică măsură și tulpinile altei grupe. Anticorpii din serul antivibrion septic nu sînt fixați de alți anaerobi ca *Bac. perfringens, Bac. sporogenes, Bac. histolyticum, Bac. oedematiens,* așa că, reacțiile serologice și în special, reacția de fixare a complementului poate servi pentru diagnosticul diferențial dintre aceste specii de anaerobi și vibrionul septic, dar nu între acesta din urmă și *Cl. chauvoei* cu care are antigeni comuni (Weinberb și Mihăilescu).

PATOGENITATEA ȘI ELEMENTELE EI

Bacilul este toxic și virulent și multipilicarea lui în țesuturi este condiționată de capacitatea sa toxică. Animalele imunizate față de toxinele germenului sînt refractare față de cultura integrală. Sporii debarasați de toxină și inoculați apoi în țesuturi sănătoase sînt de obicei inofensivi; dezvoltă însă constant procesul morbid caracteristic, în absența toxinei, dacă sînt injectați împreună cu substanțe care reduc vitalitatea țesuturilor. Astfel, sporii asociați cu acidul lactic, clorura de calciu, toxina vibrionului septic etc., infectează animalele sensibile. Toxina, în absența germenilor, poate dezvolta procese morbide mortale, dar caracterul leziunii este întrucîtva diferit de cel provocat de cultura integrală.

Vibrionul septic pune în libertate produși toxici atît în organismul animalelor în care se multiplică, cît și în mediile de cultură. În filtratul culturilor în bulion se pot distinge două fracții toxice: una hemolitică, cealaltă toxică, precum și substanțe cu funcțiuni agresinice ca hialuronidaza, fibrinolizina, o coagulează, și o dezoxiribonuclează. Aceasta din urmă mai e cunoscută și sub numele de toxina beta și ea e diferită antigenetic de desoxiribonucleaza bacilului perfringens (Warack și col. 1951).

Fracția hemolitică se găsește în culturi vechi de 24—48 de ore și este foarte fragilă; se distruge în 30 de minute la 50—55°C, iar la 45°C pierde mare parte din activitatea sa. Nu este egal de activă față de globulele roșii ale diverselor specii animale. Astfel, examinîndu-se activitatea hemolitică a filtratelor provenind de la 4 tulpini, s-a constatat că toate au hemolizat globulele roșii de cobai, trei din ele au fost active față de globulele roșii de iepure, cal și bou și numai două față de globulele roșii de oaie. Globulele roșii de om sînt sensibile. Doza activă variază în raport cu originea hematiilor; 1 ml de suspensie de globule roșii de cobai este hemolizat de doze de toxină variind de la 0,01 la 0,5 ml; același volum de globule roșii de iepure, cal sau bou este hemolizat, de obicei, de doze mai mari de filtrat. Hemotoxina vibrionului septic aglutinează globulele roșii de diverse origini; aglutinarea este produsă de doze mici de filtrat — 0,01 sau 0,1 ml; fenomenul se petrece, în bune condiții, la temperatura de 0°C.

Globulele roşii fixează, dintr-un filtrat activ, numai hemotoxinele; un filtrat care a stat în contact cu globulele roşii se debarasează deci de fracţia sa hemotoxică. Pe agar cu sînge de cal, în plăci Petri, bacilul produce întîi hemolizine alfa şi mai tîrziu beta.

Fracţia toxică se găseşte în filtratul culturilor din bulion glucozat 0,2%. Concentraţia maximă de toxină, după unii autori, este atinsă după o incubaţie de 18—24 de ore. După alţii, este necesară o incubaţie de 5—15 zile, pentru a se ajunge la cel mai mare procent de toxină în mediu.

Glucoza favorizează producţia de toxină şi mediile mai bogate în glucoză conţin mai multă toxină ca cele sărace. Concentraţia optimă de glucoză este după unii autori de 0,2%, după alţii de 0,5%. Producţia de toxină se accentuează în bulion tamponat cu 0,5—0,8% fosfat bipotasic şi 0,2% piruvat de sodiu. Acidul citric şi sîngele uscat nu favorizează toxigeneza.

Toxina este reţinută, în mare parte, de unele filtre, de aceea se recomandă ca separarea toxinei de corpii bacilari, să se facă prin centrifugări prelungite.

Toxina se conservă, chiar sub formă lichidă, cîteva luni la gheţar. Sub formă de pulbere, durata conservabilităţii este mult mărită, cîţiva ani. Pentru a o obţine sub această formă este precipitată din filtrat cu sulfat neutru de amoniu chimic pur, 620—700 g pentru 1 l; precipitatul se usucă în prezenţa acidului sulfuric sau fosforic şi apoi se pulverizează; pulberea este păstrată în vid; 1 l de toxină poate da 6,950—11,980 g de substanţă uscată. Din mediul lichid toxina este precipitată în proporţii de 64,2%. Toxina pierde mult din activitatea sa prin încălzire la 55°C şi se distruge complet, în 30—60 de minute la 70°C sau în 5 minute la 100°C.

Toxina vibrionului septic are fracţii comune cu toxina bacilului histolitic (Guillaumie şi col., 1953).

TOXICITATEA FILTRATELOR PENTRU ANIMALELE DE EXPERIENŢA

Cobaiul. O cantitate de 20 ml de filtrat, injectată pe cale intravenoasă, omoară cobaiul în 5—10 minute, 1 ml în 30—60 de minute, 0,5 ml în 6—12 ore, iar doza de 0,1 ml este inofensivă; animalele mor prin oprirea respiraţiei. Pe cale subcutană, doza de 4 ml omoară, în 1—3 zile, numai jumătate din cobaii inoculaţi; o doză de 1—2 ml produce o escară umedă, iar cea de 0,01 ml o tumefacţie trecătoare; leziunile cutanate sînt asemănătoare celor produse de stafilococ. Pe cale intradermică, doza de 0,01 ml produce o necroză locală, al cărui diametru variază de la 8—11 mm. La autopsia animalelor moarte în urma injecţiilor subcutane se observă un edem hemoragic, fără bule de gaz la locul de inoculare, lichid roz în cavitatea peritoneală, congestia intestinelor; ficatul este de culoarea frunzei uscate, putînd prezenta puncte necrotice; rinichii decoloraţi şi cu puncte necrotice; pulmonii anemiaţi.

Iepurele, pe cale intravenoasă, este tot aşa de sensibil faţă de toxina vibrionului septic ca şi cobaiul; el suportă mai bine însă această toxină pe cale subcutană. Se constată însemnate diferenţe de la un iepure la altul, în modul de reacţie faţă de toxină. D.l.m. de toxină uscată este în medie de 1—3 mg pe 1 kg de greutate vie.

Şoarecele este sensibil faţă de toxină; unele toxine îl omoară pe cale intravenoasă, chiar în doză de 0,005 ml. Moartea survine după cîteva minute în cazul injecţiei unei doze mari (10—20 d.l.m. sau mai mult) şi după 1—48 de ore cînd s-a injectat un volum de toxină egal cu 1—2 d.l.m. Animalele pot prezenta o scurtă perioadă de agitaţie înaintea morţii, sau mor în stare de prostraţie. La autopsie, se găseşte uneori un puternic edem pulmonar, alteori nici o leziune macroscopică netă.

Toxina lichidă conţine, în medie, în 1 ml, 150—350 d.l.m. pentru şoarece (calea intravenoasă), iar cea uscată omoară şoarecele în doze variind de la 0,5 la 0,095 mg, cu o medie de 0,07 mg.

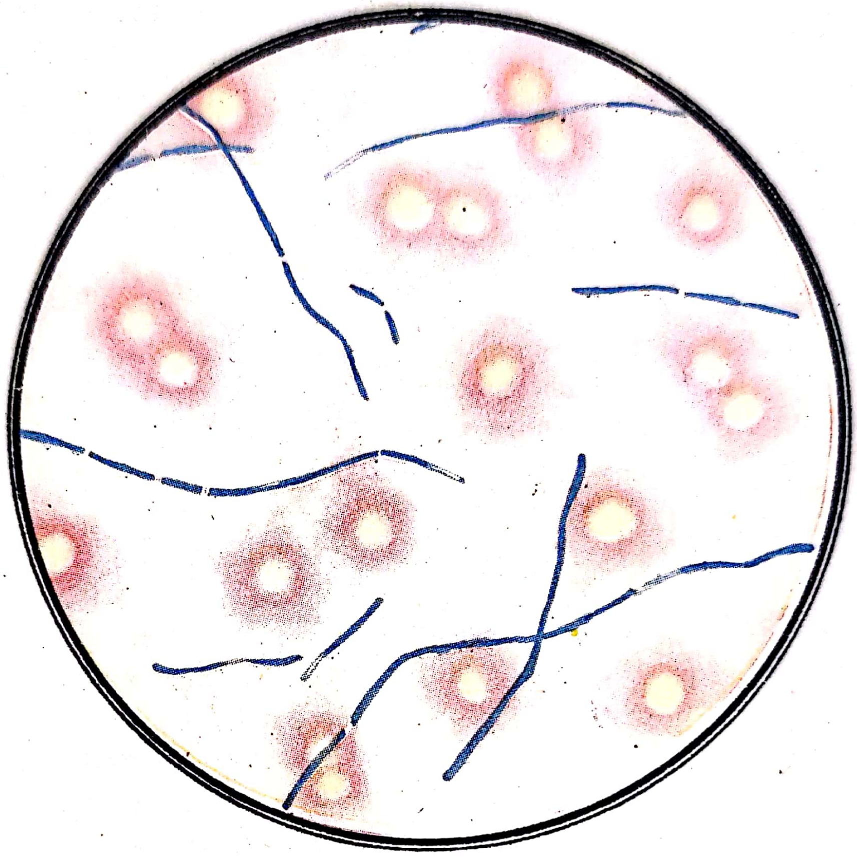
Infecţia experimentală. Culturile integrale de vibrion septic sînt patogene pentru şoarece, cobai, şobolan, iepure, porumbel, găină, porc, cal etc. Patogenitatea variază, în limite largi, de la o tulpină la alta.

Cobaiul se comportă faţă de inoculările intravenoase de cultură ca şi faţă de injecţiile practicate pe aceeaşi cale cu toxina respectivă. Doza de 0,1 ml omoară cobaiul în 12—36 de ore; la cadavrele animalelor moarte după 12 ore se constată o congestie violentă a viscerelor abdominale; la cele ale animalelor moarte după 24—36 ore se observă adesea un edem hemoragic gazos în regiunea în care a fost introdusă cultura în venă. Bacilii separaţi prin centrifugare de mediul în care s-au dezvoltat şi puşi într-un volum egal de apă fiziologică sînt mai puţin activi decît culturile integrale şi doza de 0,1 ml este, în general, inofensivă. Pe cale subcutană nu se observă nici o diferenţă între culturile totale şi bacilii spălaţi: 1 ml de suspensie de germeni patogeni omoară cobaiul în 12 ore sau mai puţin, 0,1—0,01 ml în 24—36 de ore, iar dozele mai mici, 0,001 ml, omoară de obicei numai o parte din cobaii inoculaţi sau sînt complet inofensive. Sînt însă tulpini constant patogene chiar în această doză. Pe cale intramusculară, doza de 0,001 ml este în mod obişnuit inofensivă, în timp ce dozele mai mari sînt de regulă mortale; dozele foarte mici — 0,000 01 ml — sînt incapabile să dezvolte un proces morbid, producînd totuşi moartea, dacă sînt inoculate în amestec cu 1 ml de toxină vibrion septic.

Cobaii morţi în urma unei infecţii cu cultură integrală prezintă o escară umedă la locul de inoculare, iar sub escară un edem hemoragic cu bule de gaz; în cavitatea peritoneală lichid de culoare roz; intestinele congestionate; pe ficat şi rinichi, pete necrotice; culturile din cord sînt regulat pozitive; în frotiurile de pe suprafaţa ficatului, precum şi în cele din lichidul peritoneal se găsesc frecvent filamente.

La iepure, inoculările intramusculare sînt mai severe ca cele subcutane. Pe această din urmă cale cultura integrală, ca şi bacilii spălaţi, în doză de 2 ml produc procese locale — tumefacţii, edeme şi eriteme ale pielii — vindecabile. Culturile integrale, în amestec cu acid lactic, produc pe aceeaşi cale, escară. Pe cale intramusculară, doza de 1 ml sau chiar de 0,1 ml omoară animalul adult în 12—24 de ore, producîndu-i la locul de inoculare o tumoare de tip cărbunos, cu centru negru şi cu marginile de culoarea cărnii de peşte. Pe cale intravenoasă, culturile dau aceleaşi rezultate ca şi toxina extrasă din aceeaşi cultură. Animalele tinere — puii de iepure — sînt mult mai sensibile ca animalele adulte.

PLANȘA XIV



Clostridium oedematis maligni

Frotiu de pe suprafața ficatului, de la cobai infectat experimental. Colorație: Gram (desen: *Cerni*)

Şoarecele este foarte sensibil ; unele tulpini omoară şoarecele în doză de 0,001 ml. Virulenţa tulpinilor se exaltează prin treceri repetate pe şoarece.

Infecţia, la *porumbel,* evoluează foarte repede. Soima (1940) constată că o doză minimă mortală pentru cobai omoară porumbelul pe cale intramusculară în $5^{1}/_{2}$—12 ore. Leziunile constau dintr-un edem hemoragic şi gazos la locul de inoculare, congestia organelor interne şi uneori puncte necrotice pe ficat.

Calul este receptiv : Weinberg şi Séguin descriu evoluţia unei infecţii experimentale la acest animal, descriere pe care o rezumăm mai jos.

Un cal a fost inoculat cu lichidul de centrifugare (30 ml) al unei culturi foarte toxice de vibrion septic, izolat de la om ; lichidul inoculat conţinea pe lîngă toxină si rari bacili. In urma inoculării s-a constituit un edem la locul de inoculare, care s-a întins şi a cuprins, în 3 zile gîtul (locul de inoculare), un membru anterior şi mare parte din faţa ventrală. Starea generală s-a înrăutăţit pe măsură ce edemul s-a întins ; temperatură 39°C şi mai mult, puls slab, respiraţie accelerată, constipaţie rebelă, mucoasele subicterice ; hemoculturile pozitive ; tratament cu ser imun (750 ml în 3 zile) si puncte de foc aplicate pe edem ; hemoculturile au devenit negative, dar animalul a murit în urma infecţiilor piogene care au avut ca punct de plecare punctele de foc.

Cîinele pare refractar ; 5 ml de cultură de vibrion septic (tulpină foarte patogenă pentru cobai) au produs la unii cîini uşoare reacţii locale, iar la alţii nici o reacţie.

Balenele par sensibile. Se afirmă că săgeţile otrăvite, folosite de norvegieni pentru vînarea balenelor, conţin spori de vibrion septic şi *Cl. chauvoei.*

Infecţia naturală evoluează la om şi la animale (cal, măgar, porc, oaie, capră, iepure, găină, raţă, porumbel, şobolan, şoarece etc.), de cele mai multe ori, sub forma de gangrenă gazoasă traumatică ; germenii pătrund în organism prin soluţiile largi de continuitate ale pielii sau mucoaselor şi determină la locul de pătrundere, mai rar într-o regiune îndepărtată, apariţia unui edem gazos malign. Infecţia poate avea ca punct de plecare şi uterul, după naştere sau avort. Infecţiile cu vibrion septic au un caracter sporadic ; la oi şi la capre însă s-a descris o infecţie *(Bradsot* sau *Braxy)* produsă de vibrionul septic şi care are uneori un caracter enzootic.

Imunitate. Animalele de laborator — şoareci, cobai, iepuri — pot fi imunizate. Primele cercetări în această direcţie au fost făcute de Roux şi Chamberland în 1887, care au arătat că atît culturile sterilizate la 115°C, cît şi filtratele lichidelor din edemul produs de bacil la animale imunizează cobaiul. Cercetările ulterioare au dovedit valoarea imunizantă a produselor inactivate. Toxina formolată 0,3% sau cultura formolată (anacultură) imunizează cînd sînt injectate la cobai în două reprize la 10—12 zile interval : prima injecţie se face cu 3 ml, iar a doua cu 5 ml. Animalele astfel vaccinate rezistă la o infecţie de control făcută cu două doze minime mortale. Anacultura vaccinează în aceleaşi condiţii şoarecii şi iepurii.

Serul animalelor vaccinate este dotat cu proprietăţi preventive şi curative. Serul antivibrion septic se obţine pe cal, căruia i se injectează, în vederea obţinerii unui ser mixt, antitoxic şi antimicrobian, toxină şi corpi microbieni; iniţial, calul se injectează de 3—4 ori cu filtrat toxic şi apoi cu suspensii bacilare în apă fiziologică şi toxină decantată; suspensiile bacilare sînt inoculate pe cale intravenoasă; toxina decantată se inoculează subcutan cîteva ore după injecţia bacililor. Imunitatea de bază se poate obţine în bune condiţii cu anacultura. Serurile mixte în doză de 0,25 ml, protejează cobaiul faţă de 1—20 ml de cultură.

Serurile imune sînt în general active faţă de toate tulpinile de vibrion septic; uneori, se constată totuşi, că un ser este mai activ faţă de tulpina care a fost folosită la preparare decît faţă de tulpinile heterologe.

Serul antivibrion septic se titrează pe animale de experienţă. Unii autori susţin că titrarea prin injecţii pe cale intravenoasă şi intramusculară, la cobai, dă rezultate bune. Weinberg (1931) socoteşte că un ser antivibrion septic poate fi folosit în terapeutică dacă în doză de 0,001 ml protejează iepurele de 2 kg faţă de o doză sigur mortală de toxină. Alţi autori ajung la concluzia că cele mai bune rezultate se obţin prin titrarea pe şoarece. Proba rezistenţei conferite de variatele doze de ser se face cu o doză test de toxină. Doza test în comparaţie cu unitatea toxică — 20 de doze minime mortale pentru şoarece — dă rezultate net superioare. Doza test de toxină este o cantitate de pulbere toxică, care după un contact de 1 oră la 37°C, cu o unitate antitoxică de ser etalon, omoară aproximativ jumătate din şoarecii injectaţi cu acest amestec pe cale intravenoasă. O unitate antitoxică neutralizează aproximativ 15—16 doze minime mortale de toxină. Un sfert de unitate antitoxică neutralizează un număr variabil de doze minime mortale de toxină, după tulpina vibrionului septic care a servit la preparare. Unitatea antitoxică se stabileşte în raport cu doza test, care la rîndul ei se determină printr-un ser etalon.

Serurile antivibrion septic nu sînt uniforme; anticorpii conţinuţi de un astfel de ser imun, variază nu numai cantitativ, ci şi calitativ. Variaţiile de ordin calitativ se pun în evidenţă în cursul titrării unui ser cu toxine de diferite preparaţii constatîndu-se că titrul serului variază în raport cu toxina folosită. Aceste variaţii nu depăşesc însă 25% din titrul serului. Cantitatea şi calitatea anticorpilor conţinuţi de serul imun oglindesc proprietăţile toxinei folosite la prepararea serului. Faptul că un ser imun diferă calitativ de alt ser imun se datoreşte componenţei toxinei întrebuinţate la hiperimunizare. Bacilul nu pune în libertate, în cursul metabolismului său, mereu aceiaşi principii. Aceştia, se pare, pot diferi de la o cultură la alta. Aceste constatări par a fi valabile pentru secreţiile toxice ale tuturor germenilor care produc gangrene gazoase.

Toxina vibrionului septic conţine antigeni comuni cu aceea a bacilului histolitic, fapt care rezultă din aceea că un ser antivibrion septic neutralizează, într-o oarecare măsură, toxina histolitică, iar un ser antihistolitic toxina vibrionului septic.

Tratamentul infecţiilor produse de vibrionul septic. Sulfamidele au faţă de vibrionul septic o acţiune remarcabilă. Într-o experienţă, cobaii infectaţi cu 0,5 ml dintr-o cultură diluată $^{1}/_{25}$ şi trataţi per os, după $^{1}/_{2}$, 24 şi 48 de ore de la inoculare cu 10 ml de mesudin 5% pe kilocorp au supraviețuit. în timp ce toți martorii netratați au murit. Rezultate asemănătoare s-au obținut și pe șoarece și iepure. Acțiunea antiinfecțioasă este și mai mare dacă sulfamida activă este asociată cu ser imun. Serul imun singur pare inferior mesudinului.

Penicilina este activă în infecțiile produse de vibrionul septic. În condiții experimentale s-a constatat că penicilina administrată subcutan, în doză totală de 8 000—44 000 unități, prelungește pînă la 48 de ore viața cobailor infectați cu vibrionul septic, în doze care omoară martorii în 7—20 de ore.

Bradsotul sau braxy
(Gastromycosis ovis)

Bradsotul este o infecție întîlnită numai la oi și capre; este produsă de vibrionul septic Pasteur *(Cl. oedematis maligni)* și se caracterizează printr-o evoluție supraacută (bradsot în limba daneză înseamnă boala rapidă) și dezvoltarea, în special în pereții celui de al patrulea compartiment gastric, a unui edem hemoragic.

Boala a fost semnalată în țările din nordul Europei încă de la începutul secolului al XIX-lea.

Etiologia infecției este încă nelămurită și confuză. Dacă unii cercetători consideră bradsotul ca o infecție digestivă produsă de vibrionul septic, alții includ, sub acest nume, și infecții anaerobe produse de *Bac. gigas* sau *Bac. oedematiens* (Mamedov, 1955). Ținînd seama că germenul izolat de Nielsen și de Jensen în țările nordice, de la oile moarte cu simptome și leziuni de bradsot, era un vibrion septic, socotim ca agentul bradsotului acest microb și denumim bradsot sau braxy numai infecțiile digestive produse de vibrionul septic.

Bradsotul este o infecție digestivă care se întîlnește în țările nordice — Islanda, Norvegia, Scoția — precum și în unele regiuni ale U.R.S.S. — Stalingrad, Kirghizia — și se pare că nu există în țara noastră. Ea apare la animale tinere — 6 — 12 luni — și numai rar la animale mai în vîrstă. Pierderile datorite bolii sînt în Islanda de 10—30% (Dungal). Poarta de intrare a germenului nu este în acest caz o soluție de continuitate a învelișului cutanat, ci se găsește la nivelul tubului digestiv. Se admite că pătrunderea germenului în pereții tubului digestiv este favorizată de o anumită alimentație. Diverși observatori au constatat că infecția apare în cursul iernii sau primăvara, în urma consumului unor furaje înghețate, dure. Prin acțiuni mecanice, fizice și poate chimice, asemenea furaje creează condiții prielnice infiltrării vibrionului septic în pereții tubului digestiv. Dezvoltarea procesului patologic este condiționată desigur de preexistența în tubul digestiv a unor variante patogene de vibrion septic. Cînd aceste două condiții s-au realizat, infecția se instalează și are o evoluție rapidă. Boala apare brusc. Oaia infectată încetează dintr-odată să mai mănînce, deplasarea sa se face cu greutate și din această cauză rămîne în urma turmei.

Animalul moare de regulă în cîteva ore, prezentînd înainte de moarte tulburări generale grave: dispnee, colici spasmodice, scrîşnirea dinţilor, hemoragii bucale, nazale şi anale etc. Vindecarea animalelor îmbolnăvite nu se observă aproape niciodată. La capre, după Boiko şi Abalihin, boala debutează prin diaree sanguinolentă şi spumoasă, însoţită de balonarea abdomenului. Mai tîrziu apar şi tulburări nervoase, care constau din convulsii ale muşchilor capului, gîtului şi membrelor anterioare. Temperatura, iniţial normală, se ridică pînă la 41,5°C, după apariţia tulburărilor nervoase. Animalul moare în 2—3 ore, prezentînd, scurt timp înainte de moarte, dispnee gravă, spumă în jurul cavităţilor nazale, mişcări de lopătare ale membrelor anterioare, iar uneori scoate ţipete neobişnuite.

La autopsie se constată o îngroşare edematoasă şi hemoragică a peretelui caietei. Uneori, pe lîngă această leziune care caracterizează bradsotul, se mai pot găsi hemoragii pe mucoasa intestinului subţire şi în special în duoden, hemoragii pe seroase, tumefacţia ganglionilor limfatici, exudate în cavităţile seroase, edeme gelatinoase în ţesutul conjunctiv subcutan etc. Peritonita a fost semnalată de Dungal.

Infecţia are în general caracter sporadic. În cazul cînd un efectiv de animale este supus aceloraşi condiţii de mediu, se poate ca numărul animalelor bolnave să fie mare, cazurile de boală succedîndu-se la scurte intervale de timp.

Diagnosticul se face în general pe baza leziunilor găsite la autopsia animalelor şi pe examenul bacteriologic. Izolarea vibrionului septic din organe şi măduva oasoasă constituie o indicaţie de infecţie tip bradsot, numai atunci cînd însămînţările se fac repede după moarte, căci în cadavrele mai vechi, geremenul se poate izola şi de la animale normale, sacrificate în abator.

La laborator, pentru examenul bacteriologic se trimit ficatul, rinichii, un os lung nedeschis, caieta, duodenul şi sînge recoltat aseptic. Organele, pentru a evita procesele de putrefacţie, se pot trimite într-o soluţie de glicerină 30—40% (sterilă) sau într-o soluţie 0,5% de acid fenic (Ivanov).

Profilaxia bolii se sprijină pe măsuri specifice şi nespecifice. Ca mijloace specifice de prevenire se folosesc vaccinurile, reprezentate prin culturi de 24 de ore şi formolate (0,2—2,5%) de *Cl. oedematis maligni*, care se pot injecta la oile din turme ameninţate de infecţie sau chiar infectate. Întrebuinţînd un asemenea vaccin, Dungal (1932) a obţinut o reducere importantă a mortalităţii la miei. Rezultate similare a obţinut Strogov în bradsotul caprelor. Vaccinul se injectează intramuscular, în muşchii coapsei, în două reprize, în doze respectiv de 2 şi 3 ml, la 14—18 zile interval (Ivanov). Animalele vaccinate pot prezenta o reacţie locală şi şchiopătare.

Alături de vaccinare, se va aplica ca măsură nespecifică, schimbarea locului de păşunat, îngroparea cadavrelor şi dezinfecţia locală, evitarea consumului de furaje reci, îngheţate etc.

Tratamentul bolii poate fi încercat, după Strogov, cu ser antivibrion septic.

BIBLIOGRAFIE

BOIKO C. şi ABAI ICHIN A. S — Bradsot la capre, *Veterinaria*, 1952, nr. 4, p. 31.

DUNGAL N. — Cercetări bacteriologice asupra bradsotului oilor din Islanda. Patogenie şi vaccinare. *Ann. Inst. Pasteur,* 1932, 48, p. 603.

GUILLAUMIE M. şi col. — Antigeni comuni în toxinele vibrionului septic şi bacilului histolitic. *C. R. Ac. Sci.,* 1953, 236, p. 422.

LECLAINCHE şi VALLÉE — Studiul comparat al vibrionului septic şi al bacteriei cărbunelui simptomatic. *Ann. Inst. Pasteur,* 1900, 14, p. 590.

MAMEDOV A. A. — Cu privire la etiologia bradsotului oilor în R.S.S. Azerbaidjană. *Veterinaria,* 1955, nr. 7.

NESTORESCU N., MESROBEANU L. şi TEODORESCU B. — Contribuţii la studiul structurii antigenice a vibrionului septic. *Arch. Roum. de Path. Expér.,* 1942, 12, p. 455.

PASTEUR L. şi JOUBERT J. — *C. R. Ac. Sci., Paris,* 1877, 85, p. 113.

ROUX şi CHAMBERLAND — Imunitate contra septicemiei. *Ann. Inst. Pasteur,* 1887, 1, p. 561.

WARRACK H. şi col. — Toxina beta (desoxiribonucleasa) la Cl septicum. *J. Path. Bact.,* 1951, 58 p. 293.

Relaţiile dintre Cl. chauvoei şi Cl. oedematis maligni

Asemănări de ordin morfologic şi antigenic, între cei doi germeni, au fost de mult timp semnalate. Roux, in 1888, constată că, de exemplu, cobaii vaccinaţi cu substanţele solubile secretate de vibrionul septic sînt imuni şi faţă de *Cl. chauvoei* şi invers. Cercetările comparative, privind cei doi anaerobi au continuat şi după această constatare şi au fost obţinute rezultatele cele mai contradictorii. Astfel, dacă pentru unii cercetători cei doi germeni sînt identici şi un animal vaccinat cu unul din ei rezistă, în aceleaşi condiţii, faţă de ambii germeni, pentru alţii cei doi anaerobi se disting atît prin unele caractere morfologice, cît şi prin structura lor antigenică. Cercetări întreprinse, printre alţii, de Weinberg şi Mihăilescu (1929), tind să dea o explicaţie acestor diferite rezultate. După aceşti autori, tulpinile de *Cl. chauvoei* nu sînt toate identice între ele: unele tulpini au caractere intermediare între *Cl. chauvoei* şi vibrionul septic. *Cl. chauvoei,* după aceşti autori, este în realitate un vibrion septic de tip bovin care s-a diferenţiat şi s-a adaptat în cursul timpului la această specie. Gradul de adaptare şi diferenţiere nu este egal de avansat la toate tulpinile; unele din ele conservă încă, în parte, însuşirile vibrionului septic. Astfel se explică pentru ce, în cercetările de imunizare încrucişată, unii autori, deşi au folosit culturi sigur pure, au obţinut rezultate pozitive, în sensul că au imunizat cu *Cl. chauvoei* cobai, faţă de vibrionul septic şi invers, în timp ce alţii, în aceleaşi condiţii, au avut rezultate negative Tulpinile de *Cl. chauvoei* cu caractere intermediare vor imuniza animalele faţă de ambii anaerobi. Tulpinile complet diferenţiate nu au asemenea antigeni şi nu vaccinează animalele decît pentru specia bacteriană omoloagă.

Între cei doi anaerobi există apropieri, dar există diferenţe de ordin morfologic, cultural şi antigenic care justifică pe deplin clasarea lor în două specii diferite.

Caracterele morfologice diferenţiale. Vibrionul septic, în lichidul peritoneal al cobailor morţi în urma infecţiei cu acest germen, se prezintă sub formă de filamente lungi, care uneori pot traversa de la un capăt la altul cîmpul microscopic. Asemenea filamente se întîlnesc mai ales în frotiurile obţinute prin aplicarea lamei de suprafaţa ficatului. *Cl. chauvoei* nu constituie asemenea formaţii, el prezentîndu-se de regulă, sub formă de elemente bacilare izolate. Acest caracter nu are o valoare absolută de diagnostic. Într-adevăr, unele tulpini de vibrion septic nu formează filamente, iar altele, identificate ca *Cl. chauvoei*, formează filamente.

Caractere culturale şi biochimice diferenţiale. Majoritatea tulpinilor de *Cl. chauvoei* nu se dezvoltă în geloză profundă lipsită de ser; unele tulpini pot forma însă, tîrziu după însămînţare, colonii mici punctiforme, în geloză profundă, glucozată. In orice caz, prin modul său de comportare în geloza profundă, *Cl. chauvoei* se deosebeşte net de vibrionul septic. În lapte cu carne cei doi anaerobi se comportă de obicei diferit; astfel, *Cl. chauvoei* coagulează laptele producînd un coagul moale, nespongios, aderent de tub şi acoperit de o cantiate redusă de zer, în timp ce vibrionul septic produce un coagul spongios şi sfărîmicios şi care pluteşte într-un lichid clar şi abundent. Weinberg şi Mihăilescu nu au găsit nici acest caracter suficient de fix; după autori, unele tulpini autentice de *Cl. chauvoei* se comportă ca vibrionul septic şi invers.

După Scott (1932), vibrionul septic atacă salicina, dar nu zaharoza, în timp ce *Cl. chauvoei* este inactiv faţă de zaharoză, dar atacă salicina. Weinberg şi Mihăilescu, precum şi Mihăilescu şi Ciurea (1936) au demonstrat că şi acest caracter este relativ.

Hemolizinele vibrionului septic se comportă faţă de globulele roşii ale diverselor specii animale ca şi hemolizinele secretate de *Cl. chauvoei*. Bernard (1933) afirmă totuşi că *Cl. chauvoei*, spre deosebire de vibrionul septic, hemolizează globulele roşii de oaie în următoarele condiţii: 0,1 ml cultură de *Cl. chauvoei* + 2 ml de apă fiziologică în amestec cu 0,2 ml globule roşii de oaie.

Caractere serologice diferenţiale. Weinberg şi colaboratorii constată că din 29 de tulpini de *Cl. chauvoei* 19 au fost aglutinate numai de serul antichauvoei, iar 10 au fost aglutinate de serul homolog (antichauvoei), la un titru variind de la 1/500 la 1/5 000, dar şi de un ser antivibrion septic (din şase examinate) la un titru variind de la 1/100 la 1/500.

Prin reacţia de fixare a complementului, Weinberg şi colaboratorii nu au reuşit să distingă cei doi anaerobi; serul antichauvoei dă rezultate pozitive cu ambii anaerobi; la fel se comportă şi serul antivibrion septic.

Rezultă din aceste date că *Cl. chauvoei* poate fi diferenţiat de vibrionul septic prin seroaglutinare, dar nu prin reacţia de fixare a complementului.

Incercări de imunitate încrucişată. Kitasato observă că cobaii vaccinaţi cu culturi de *Cl. chauvoei* inactivate rezistă la o infecţie cu *Cl. chauvoei*, dar nu rezistă faţă de o infecţie făcută cu vibrion septic. Leclainche şi Vallée obţin cu cei doi anaerobi seruri cu acţiune preventivă strict specifică; cobaii injectaţi cu ser antichauvoei sînt rezistenţi numai faţă de bacilul chauvoei şi nu şi faţă de vibrionul septic. Nicolle, Césari şi Raphael constată că din contră, cobaii inoculaţi în mai multe rînduri, cu filtrate toxice chauvoei rezistă în aceleaşi condiţii şi faţă de chauvoei şi faţă de vibrionul septic, iar serul cobailor astfel imunizaţi previne o infecţie făcută cu unul sau cu altul din cei doi anaerobi. Weinberg şi Mihăilescu, reluînd această problemă, ajung la concluzia că serurile antivibrion septic preparate pe cal, conţin anticorpi capabili să neutralizeze toxinele şi hemolizinele secretate de chauvoei; concentraţia serului în antitoxine creşte în cursul imunizării, ceea ce dovedeşte că este vorba de anticorpi specifici şi nu de anticorpi normali, care se găsesc în cantităţi apreciabile în serul unor cai normali (1/20 ml neutraliza într-o experienţă a lui Weinberg, o doză minimă mortală de *Cl. chauvoei*). Serurile antivibrion septic, bogate în antitoxine şi antihemolizine antichauvoei, neutralizează in vivo cultura acestui anaerob. Doza neutralizantă faţă de cultura chauvoei este mai mare ca aceea care neutralizează cultura de vibrion septic.

În concluzie, problema diferenţierii celor două specii de anaerobi pare, după datele din literatură, foarte complexă. În practica de laborator, lucrurile nu par aşa de complexe şi de obicei nu se întîmpină dificultăţi în identificarea tulpinilor. Identificarea se face ţinînd seamă de următoarele caractere principale:

1. aspectul morfologic;
2. aspectul cultural în bulion Tarozzi şi mai ales în geloză Veillon;
3. aspectul leziunilor produse la cobai şi morfologia germenilor în frotiuri făcute de pe suprafaţa ficatului.

BIBLIOGRAFIE

MIHAILESCU M. şi CIUREA V. — Fermentarea salicinei de către vibrionul septic şi B. chauvoei. *Arch veterinaria*, 1936, 29, p. 187.

MIHAILESCU M. şi CIUREA V. — Fermentarea zaharozei de către vibrionul septic şi B. chauvoei. *Archiva veterinară*, 1938, 30, p. 35.

SCOTT J. — *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1932, p. 850.

Clostridium welchii Holland, 1920

Sinonime: *Bacillus aerogenes capsulatus* Welch şi Nuttal, 1892, *Bacillus phlegmonis emphysematosae* Fraenkel, 1893. *Bacillus enteritidis sporogenes* Klein, 1895. *Bacillus perfringes* Veillon şi Zuber, 1898

Bacilul a fost cultivat de Welch şi Nuttal din sîngele şi organele unui cadavru uman, în 1892, iar Fraenkel, în 1893, îl găseşte în gangrenele gazoase umane. Cercetările ulterioare au arătat că acest bacil este foarte răspîndit în pămînt şi că este agentul cel mai important al gangrenelor gazoase umane şi animale. La oi, purcei, viţei, mînji şi, uneori, la om,

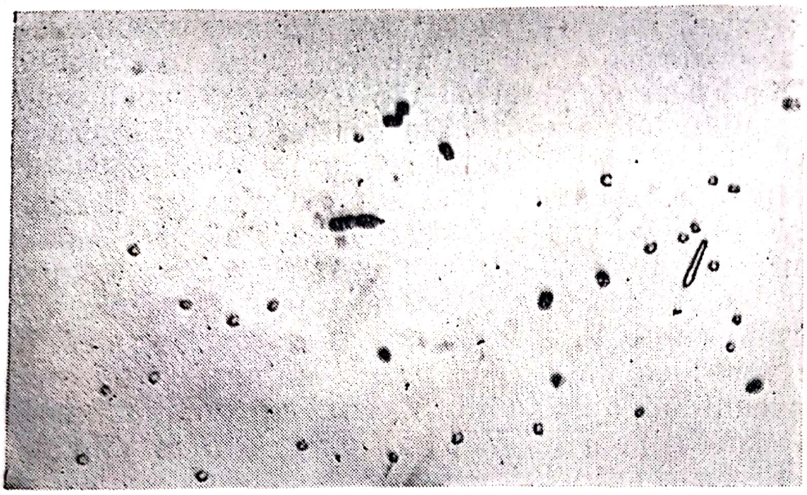


Fig. 133 — Clostridium welchii

Frotiu din bulion cu carne. Coloraţie: Gram

bacilul produce, pe lîngă gangrene, enterotoxiemii cu evoluţie rapidă şi gravă. În cadrul speciei, s-au identificat mai multe tipuri, care se disting, mai ales, prin echipamentul lor toxic şi natura precipitinogenului conţinut.

Caractere morfologice. Bacilul se distinge morfologic de ceilalţi anaerobi din această grupă. În culturile tinere, ca şi în ţesuturile animale, formele bacilare sînt în general uniforme; bacilii sînt scurţi, izolaţi sau grupaţi cîte doi; capetele sînt tăiate drept ca la bacteridia cărbunoasă sau uşor rotunjite; lungimea bacilului variază de la 0,8 la 6 microni, iar lăţimea de la 0,8 la 1,2 microni. Sporul este de formă ovală şi măsoară 0,4—0,6 microni (Broşteanu citat de Weinberg, 1937). Forme de involuţie se întîlnesc pe unele medii, şi în special pe ser coagulat. Bacilii de tip F, izolaţi din enterita necrozantă, umană, se caracterizează prin însuşirea lor de a produce frecvent forme umflate şi de a constitui filamente. Sporogeneza este foarte capricioasă; ea variază ca intesitate în raport cu tulpina şi cu condiţiile de cultură; unele medii — bulion fără zahăr, dar cu albuş de ou, ca şi serul coagulat — favorizează sporulaţia; în schimb mediile care conţin zaharuri şi care se acidifică în cursul multiplicării germenilor, o împiedică. Într-o cultură sau într-un material patologic există aproape totdeauna şi spori, dar ei nu pot fi puşi în evidenţă decît prin rezistenţa la căldură a suspensiilor respective, deoarece nu se observă în examenul direct şi nici după coloraţie cu fucsină Ziehl. Sporii sînt în general liberi; în celula bacteriană ei sînt situaţi central sau subterminal şi se prezintă ca vacuole mari, ovale, care deformează celula.

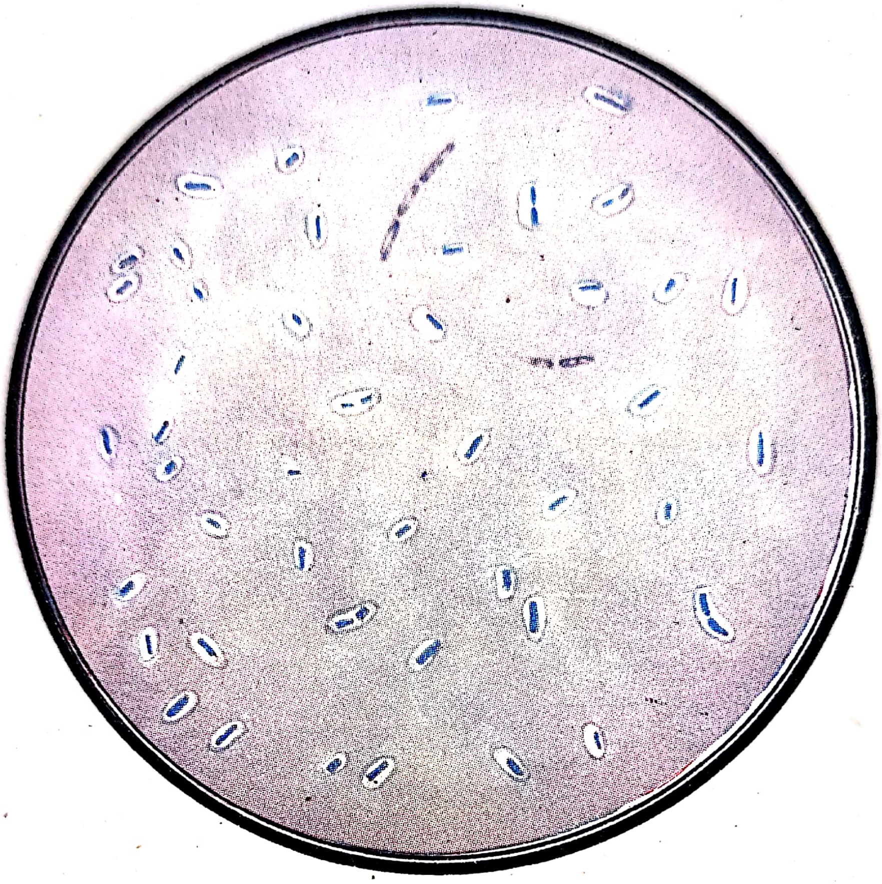
Bacilul este aciliat şi deci imobil.

Capsulează în organismul animal; în primele pasagii pe mediile de cultură, mai ales în mediile cu ser, bacilii sînt la fel incapsulaţi. Capsula se colorează prin metoda Casares-Gil, care este folosită şi la coloraţia cililor.

Bacilul, în culturile tinere, este Gram pozitiv; în culturile vechi de cîteva zile şi mai ales în cele cu reacţie acidă bacilii sînt Gram negativi.

Rezistenţa. Formele vegetative nu prezintă o rezistenţă particulară faţă de diverşi factori fizici sau chimici; ele se distrug în 15 minute la 63—65°C. Sporii în schimb rezistă la temperaturi mult mai ridicate. Rezistenţa lor variază în raport cu tulpina şi cu mediul de cultură. Broşteanu citat în Weinberg (1937) a examinat 37 de tulpini în ce priveşte re-

PLANŞA XV



Clostridium welchi — capsulat — şi cîteva filamente de *Bacillus anthracis* — necapsulat —
Frotiu făcut din amestec în părţi egale de ser sanguin şi apă distilată. Coloraţie: Giemsa (desen: *Cerni*)

zistenţa sporilor fiecărei tulpini faţă de temperatura de fierbere a apei, constatînd că sporii a 11 tulpini au rezistat la această temperatură 60 de minute, a 10 tulpini 90 de minute şi a 15 tulpini de la 100 la 170 de minute. Sporii din materiile fecale rezistă 12 minute sau mai mult la 100°C şi s-au putut izola tulpini de *Bac. perfringens* din fecalele încălzite la această temperatură. Zeissler şi Rassfeld (1949) au găsit că sporii tulpinilor izolate din enterita necrozantă umană se caracterizează printr-o mare rezistenţă la căldură — 1—4 ore la temperatura de fierbere a apei. Sporii uscaţi rezistă 15 minute la 130°C şi 5 minute la 140°C (căldură uscată).

Oxigenul foarte nociv pentru formele vegetative, nu este pentru spori; o cultură tînără, nesporulată, poate fi distrusă trecînd timp de cîteva ore, prin mediu, un curent de aer. Culturile cu forme sporulate au o rezistenţă însemnată faţă de antiseptice. Astfel, formolul, în concentraţie de 0,5%, nu le omoară decît după un contact prelungit, la 37°C, 24 de ore sau mai mult.

Bacilul este lizat de tulpinile de bacteriofag. Elford şi colaboratorii (1953) au studiat două tulpini de bacteriofag active faţă de acest bacil, constatînd că una din aceste tulpini producea liza totală a culturii.

Ecologie. *Cl. welchii* este cel mai răspîndit anaerob patogen şi el se izolează constant din pămînt. Taylor şi Gordon (1940) au examinat 196 de probe de sol şi în toate au găsit bacilul. Din pămînt el trece în apă, alimente etc. şi a fost izolat din praf, haine, încălţăminte, de pe piele şi de pe mucoase, din lapte şi din materiile fecale ale omului şi animalelor. El poate trece de pe piele sau de pe mucoase şi mai ales din conţinutul intestinal în circulaţia generală, dacă pielea sau mucoasele prezintă soluţii de continuitate; aceste treceri accidentale fac ca, uneori, hemoculturile de la indivizi sănătoşi, şi care în nici un caz nu prezintă vreun proces morbid ce ar putea fi pus în legătură cu acest germen, să fie pozitive. Asemenea treceri se fac mai ales după moarte, astfel explicîndu-se prezenţa frecventă a *Bac. perfringens* în cadavre.

Este de remarcat că în sol se găsesc numai tipurile A şi D, tipurile B şi C fiind absente.

Medii şi caractere culturale. *Bac. perfringens* este, după *Cl. amylobacter,* anaerobul cel mai tolerant faţă de oxigenul liber. El se dezvoltă pe suprafaţa agarului cu sînge, la o presiune de 40 mm de mercur, dă o cultură abundentă, în condiţii obişnuite de aerobioză, în bulionul glucozat sau în bulionul cu ficat sau carne. Se dezvoltă în limite de pH cuprinse între 5,0 şi 8,0 cu un pH optim = 7,0; nu se dezvoltă în mediu cu pH = 8,4 sau mai mult.

Bacilul tulbură intens şi uniform mediile lichide; cultura devine evidentă, în cazul unei însămînţări abundente, după o incubaţie de cîteva ore. La 12 ore după însămînţare cultura începe să sedimenteze, formînd un depozit apreciabil şi mediul se clarifică treptat. După dezvoltarea germenului fragmentele de ficat din mediu iau o culoare uşor roşie. In mediile cu zaharuri fermentescibile se constată o producţie abundentă de gaze.

Bacilul se dezvoltă în lapte, pe care-l coagulează repede; coagulul mai tîrziu se retractă, ocupînd aproximativ 1/5 din volumul lichidului. In bulionul cu sînge, hemolizează hematiile, mediul luînd o culoare brună şi un miros de acid butiric. Se dezvoltă abundent în mediul cu creier, pe care nu-l înnegreşte, ci îi dă o culoare roşie delicată, în straturile profunde. Apa peptonată este un mediu puţin convenabil.

În geloză Veillon coloniile izolate sînt, de regulă, opace, dense, lenticulare. Se pot întîlni însă, şi alte forme. Astfel, au fost găsite şi descrise colonii bombate umede, lucioase, conţinînd germeni capsulaţi şi denumite colonii sau forme M, colonii aspre, plate, cu marginile neregulate numite R, precum şi colonii uşor convexe, cu suprafaţa ondulată, numite S. Germenii diverselor tipuri de colonii nu diferă între ei din punct de vedere al patogenităţii.

Bacilul creşte pe ser coagulat, pe care de obicei nu-l lichefiază.

Coloniile pe suprafaţa agarului cu sînge sînt rotunde, au forma de buton, şi sînt înconjurate de o zonă largă de hemoliză, de culoare brună-murdară, netrasparentă.

Proprietăţi biochimice. Fermentează cu producţie de acizi (acid acetic, acid butiric, acid caproic etc.) şi gaze (bioxid de carbon şi hidrogen) glucoza, levuloza, zaharoza, lactoza, maltoza, galactoza, rafinoza, manoza, amidonul, dextrina şi glicogenul. Glicerina, salicina şi inulina sînt inconstant atacate, iar manita, dulcita şi ramnoza nu sînt fermentate.

Simond (1915) împarte tulpinile de perfringens în patru grupe, după modul cum se comportă faţă de inulină şi glicerină ; tulpinile din prima grupă atacă ambele substanţe, cele din a doua şi a treia atacă numai pe una din ele, iar cele din a patra nu atacă nici una. Tulpinile care atacă glicerina ar produce după unii autori, acroleină, produs cu proprietăţi bactericide.

Bacilul posedă proprietăţi proteolitice moderate ; lichefiază constant gelatina şi inconstant serul coagulat (17 tulpini active din 40 examinate de Broşteanu).

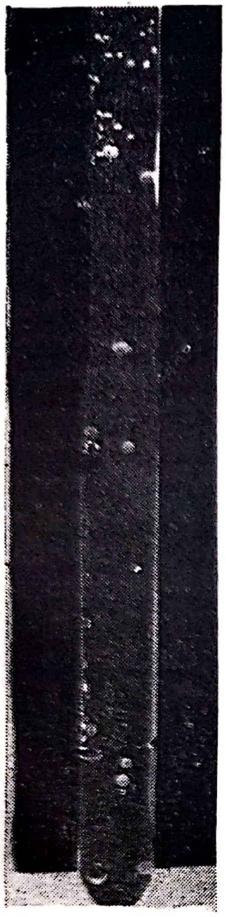


Fig. 134 — Clostridium welchii

Aspect cultural în geloză Veillon. Se observă şi bule de gaz

Produce SH_2 şi amoniac. Reduce sulfitul de sodiu în hidrogen sulfurat, şi în mediile cu clorură de fier ia naştere sulfură de fier, care înnegreşte mediile lichide şi colorează în negru coloniile de pe mediile solide.

Structură antigenică. Serul antiperfringens, preparat pe cal, aglutinează, la un titru care variază de la 1/500 la 1/2000, suspensiile bacteriene respective. Howard (1928) s-a ocupat atît de prepararea unui bun ser aglutinant, cît şi de problema tipurilor serologice. Autoarea, pentru a prepara serul aglutinant, inoculează iepurii pe cale intravenoasă cu bacilii unei culturi de 24 de ore în bulion glucozat, separaţi prin centrifugare, puşi în suspensie în apă fiziologică şi încălziţi 1 oră la 60°C. Fiecare iepure este injectat de cinci ori la interval de 3—4 zile, respectiv cu 0,75, 1, 2, 3 şi 4 ml. Sîngerarea la 2—3 zile după ultima injecţie. Titrul aglutinant de la 1/100 la 1/200. Se pot obţine seruri şi mai active dacă injecţia antigenului este imediat urmată de administrarea, tot pe cale venoasă, a unei doze de 1—2 ml de ser homolog sau heterolog. Examinînd serologic 60 de tulpini, autoarea a constatat că 40 din ele aparţineau unei singure grupe, iar 20 se grupau în 7 grupe serologice distincte. Între aceste din urmă grupe erau tulpini care nu aglutinau decît în prezenţa serului homolog. Zeissler şi Becker au examinat 9 tulpini cu patru seruri aglutinante preparate pe iepure şi care aveau un titru cuprins între 1/25 000 şi 1/100 000; cele nouă tulpini s-au grupat în trei tipuri serologice. Autorii au examinat, cu aceleaşi seruri aglutinante, 85 de tulpini aparţinînd altor specii de anaerobi şi au constatat că nici una din acestea nu era aglutinată de serul antiperfringens. Reacţia de aglutinare între tulpinile de *perfringens* şi serul homolog este specifică şi poate fi deci folosită în scop de diagnostic al speciei.

În sîngele indivizilor infectaţi cu *Bac. perfringens* nu se pot pune în evidenţă, în mod constant, aglutinine; reacţia de aglutinare nu poate fi deci folosită pentru a preciza natura infecţiei.

Filtratul unei culturi de *perfringens* floculează în prezenţa unui ser antitoxic; un ser mixt, antitoxic şi antimicrobian, produce o floculaţie mai intensă şi mai rapidă ca unul pur antitoxic. Reacţia de seroprecipitare poate fi folosită în identificarea tipurilor (Ungureanu şi Greceanu). Se folosesc în acest scop seruri precipitante preparate pe iepuri, iar ca antigen extrase chimice obţinute după un procedeu identic ca cel folosit în obţinerea unor produse asemănătoare din streptococi, bacilii rujetului etc. (metoda Lancefield, cu diverse modificări).

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Bacilul se multiplică în ţesuturile vii, el are deci un grad oarecare de virulenţă; în acelaşi timp secretă in vivo ca şi in vitro, principii toxice. Este deci un germen toxic şi virulent. Procesul patologic este dominat însă, ca şi la alţi anaerobi patogeni din această grupă, de capacitatea toxică a bacteriei.

Toxina. Weinberg şi Séguin obţin, în 1917, toxina bacilului perfringens, filtrînd culturile de 18 ore; filtratul obţinut avea proprietăţi hemolitice şi necrozante.

Mediul cel mai favorabil pentru a obţine o toxină activă este, după autori, bulionul de viţel, peptonat 1%, glucozat 0,25%, ajustat la un pH = 7,6—7,8 şi căruia i se adaugă carbonat de calciu (praf de cretă), în scopul de a neutraliza acizii produşi în cursul multiplicării germenilor. Concentraţia maximă în toxină este atinsă după o incubaţie de 10—20 de ore la 37°C. Guillaumie (1941) foloseşte, pentru prepararea toxinei perfringens de tip A, cu bune rezultate, mediul Vf (vezi pagina 672). Mediul însămînţat este incubat 17 ore la 36°C. Pentru tipul A, Olaru şi colaboratorii (1956) găsesc că cea mai mare concentraţie de toxină în mediul Vf este atinsă după 14 ore, iar după 17 ore de la însămînţare titrul toxic se poate reduce cu 50%. Unele substanţe catalizatoare ca phenantrachinona (0,0 005 g pentru 12 ml de bulion) sau sulful coloidal (0,01 ml pentru 12 ml de bulion) activează secreţia toxică. Fosfatul bipotasic (8‰) împreună cu piruvatul de sodiu 2‰), măresc şi accelerează la fel producţia toxică, funcţionînd ca sistem tampon. La fel se comportă acidul ascorbic, 15—25 ml dintr-o soluţie 0,1% pentru 1 l de bulion. Cultivarea la 33—34°C ar mări, de asemenea, cantitatea de produse toxice. Olaru şi colaboratorii (1956) arată, într-adevăr, că tulpinile de tip A însămînţate în mediul Vf, produc mai multă toxină alfa la 33°C ca la 37°C. În mediul Poppe nu se observă asemenea diferenţe.

Conţinutul în produşi toxici în medii lichide, după 10—20 de ore, incubaţie, variază în limite largi de la o preparaţie la alta, în raport cu mediul vechimea culturii şi tulpina folosită (Walbum şi Reyman, 1933, Adams şi colaboratorii 1947, Persicinek şi Cernisova, 1953, Olaru şi colaboratorii 1956).

Toxina din filtratele culturilor de *Cl. perfringens* precipită în prezenţa sulfatului de amoniu — 625—700 g la 1 l de cultură. În vederea obţinerii toxinei precipitate toxina lichidă se amestecă cu sulfatul de amoniu, se agită bine pentru a uşura dizolvarea sulfatului şi apoi se lasă 5—10 minute în repaus. În acest interval de timp toxina se ridică la suprafaţă, de unde se recoltează în plăci Petri şi se usucă. 1 l de toxină dă 0,860—1,697 g de substanţă uscată.

Filtratele obţinute din culturile tulpinilor patogene de *Cl. perfringens* conţin mai multe substanţe toxice cu activitate diferită; Weinberg şi Nasta disting în asemenea filtrate două grupe de substanţe toxice, şi anume: o grupă hemolitică şi alta nehemolitică. Grupa hemolitică era considerată de autori ca cea mai importantă. Ea este compusă la rîndul ei din hemaglutinine, hemolizine şi leucoaglutinine. Grupa nehemolitică are activitate miotoxică, neurotoxică şi hepatotoxică. Hemotoxinele pot fi separate de toxinele grupei, nehemolitice, fie prin adsorbţie pe globulele roşii de cal care fixează toxinele, dar nu le hemolizează, fie prin neutralizare cu ser normal de cal; un asemenea filtrat, în care hemotoxinele au fost neutralizate sau eliminate, pierde mare parte din activitatea sa toxică.

Toxina perfringens, lichidă sau precipitată, lichefiază gelatina. Filtratele din culturi de *Cl. perfringens,* tip A, conţin cantităţi însemnate de hialuronidază (McClean, 1936).

Principii toxici conţinuţi în filtratele sau centrifugatele culturilor de *Cl. perfringens* dispar printr-o încălzire de 5 minute la 70°C, dar, fapt paradoxal, ele nu se distrug printr-o încălzire de 5 minute la 100°C. Formolul, în proporţie de 0,1—0,3%, detoxifică filtratele într-un timp variind, de la 2 zile la 2 săptămîni.

Tipurile bacilului perfringens şi diferenţierea lor

Morfologic, cultural şi chiar biochimic nu se constată diferenţe între tulpinile de *Cl. perfringens* de diverse origini. Asemenea diferenţe se pun însă în evidenţă atunci cînd ele sînt examinate în special, din punct de vedere al echipamentului lor toxic. Într-adevăr, tulpinile patogene izolate din diverse procese patologice de la om sau animale nu secretă aceleaşi toxine. Sprijinindu-se în special pe criteriul neidentităţii echipamentului toxic, Wildson (1931—1933) a creat, în cadrul speciei *Cl. welchii,* patru tipuri denumite A, B, C, şi D. Reproducem, după Zasedateleva, un tabel care dă, după Wildson (1931—1933) şi după Glenny şi colaboratorii (1933), componenţii toxici ai celor patru tipuri iniţial identificate.

Tabelul 58

Componenţii toxici ai tipurilor de Cl. perfringens

Tipul	Factorii toxici după Wildson (1931—1933)	Factorii toxici după Glenny şi colaboratorii (1933)
Tipul A	W	Alfa
Tipul B	W.X.Z.	Alfa, beta, gama, delta şi epsilon
Tipul C	W.Z.	Alfa, beta, gama, delta
Tipul D	W.Z.	alfa şi epsilon

Cercetările ulterioare, au pus în evidenţă, la cele şase tipuri identificate pînă în prezent, 12 fracţii toxice, a căror repartizare pe tipuri este dată în tabelul alăturat (Oakley şi Warrack, 1953).

Tabelul 59

Proprietăţile şi distribuţia antigenilor biologici activi din filtratele culturilor de Cl. welchii (după Oakley şi Warrack, 1953

Simbol	Activitatea	Aparţine în filtratele tipurilor de Cl. welchii					
		A	B	C	D	E	F
Alfa α	Letală, necrotică, hemolitică, lecitinază C	+++	+	+	+	+	+
Beta β	Letală, necrotică,	—	+++	+++	—	—	+
Gama γ	Letală	—	+	+	—	—	+
Delta δ	Hemolitică, letală	—	+	++	—	—	—
Epsilon ε	Letală, necrotică (activată în prezenţa tripsinei)	—	++	—	+++	—	—
Eta η	Letală (existenţă îndoielnică)	(+)	—	—	—	—	—
Teta θ	Hemolitică (oxigen-labilă, ? letală)	++—	+	+	+	+	—
Iota ι	Necrotică, letală (activată în prezenţa tripsinei)	—	—	—	—	++	—
Capa ϰ	Colagenazică (necrozantă colagenazică, ? letală)	++	—	+	+—	+	—

(Urmare tabelul 59)

Simbol	Activitatea	Aparţine în filtratele tipurilor de Cl. welchii					
		A	B	C	D	E	F
Lamabda λ	Proteinazică, nu dezintegrează colagenul, gelatinazică	—	+++	—	+—	+	—
Mi μ	Hialuronidazică	+—	+	—	+—	—	—
Ni ν	Dezoxiribonucleazică	+	+	+	+	+	+

Explicaţia semnelor: +++ = toxina este prezentă la toate tulpinile tipului; ++ = toxina este prezentă la majoritatea tulpinilor tipului; + = toxina este prezentă la minoritatea tulpinilor tipului; (+) = toxina este prezentă numai excepţional la cîte o tulpină:; — = toxina nu se găseşte la nici una din tulpinile tipului respectiv.

Aşa cum se vede în tabel, pentru tipul A fracţia toxică dominantă este α (alfa), pentru tipul B şi C este β (beta), pentru tipul D este ε (epsilon), iar pentru tipul E este ι (iota). Toxina tipului D apare, după unii autori (Turner şi col. 1943), în culturile tinere (18—24 de ore) sub forma de protoxină inactivă, care se activează însă în prezenţa conţinutului intestinal normal, a tripsinei sau printr-o învechire în mediu (în culturi de 4—6 zile). Toxina ε (epsilon) a tipului D nu se găseşte în corpii microbieni, dar este prezentă în lichidele de spălare a corpilor microbieni (Saissac şi Reynaud, 1951). Toxina ι (iota) este un factor letal şi necrozant propriu tipului E. Fracţia λ (lambda) este o gelatinază necolagenazică, fracţia μ (mi) o hialuronidază, iar ν (ni) o dezoxiribonuclează.

Aşa cum se vede în tabel, aproape toate fracţiile produc efect letal, numai patru efect necrotic, trei sînt hemolizante şi numai una [toxina α (alfa)] dă proba lecito-vitelinică pozitivă.

Activitatea în vitro a toxinei α (alfa) a fost descoperită de Nagler (1939). Autorul constată ca filtratul unei tulpini toxigene a bacilului perfringens tulbură serul normal de om. Constatări similare face şi Seiffert tot în 1939, iar în 1941, Macfarlane şi col. arată că toxina are aceeaşi acţiune şi asupra unei soluţii limpede de gălbenuş de ou (aşa numita lecito-vitelină). Tulburarea limpidităţii celor două produse pare a fi datorită activităţii enzimatice a toxinei, asupra unor complexe lipoproteice.

Activitatea sa hemolitică pare a fi datorită aceleiaşi proprietăţi şi anume clivării lecitinei din membrana hematiilor într-o fosfonil-colină şi o digliceridă în prezenţa calciului liber. Toxina α (alfa) are efect letal în cazul administrării intravenoase şi necrotic cînd e injectat intradermic. Ea este termostabilă. Existenţa acestei fracţii toxice poate fi pusă în evidenţă atît pe animale de experienţă, cît şi in vitro. Fracţia α (alfa) este o enzimă toxică. Ea este de altfel prima toxină de tip enzimatic descoperită la bacterii.

Deosebirile, de ordin biochimic, între tipurile create de Wildson, plus *Bac. ovitoxicus,* au fost cercetate şi de Zasedateleva şi dăm în tabelul alăturat rezultatele obţinute de autoare.

Tabelul 60

Activitatea biochimică a tipurilor bacilului perfringens

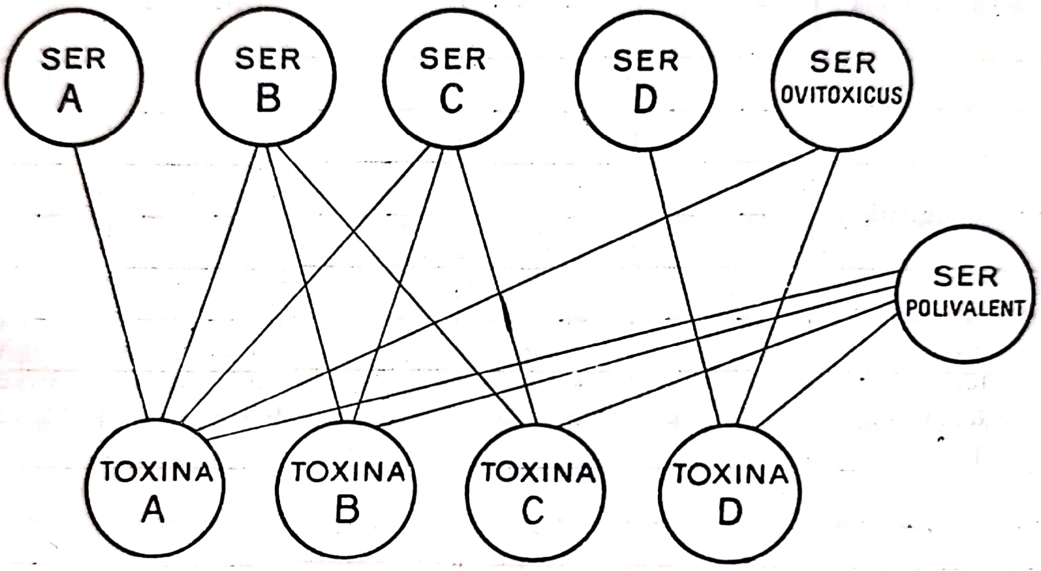
Mediul	Tipul									
	A		B		C		D		Bac. ovitoxicus	
	a	g	a	g	a	g	a	g	a	g
Mediu cu glicerină	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Mediu cu manită	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mediu cu dulcită	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mediu cu izodulcită	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mediu cu glucoză	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mediu cu galactoză	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mediu cu levuloză	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mediu cu lactoză	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mediu cu inulină	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Lapte	Toate tipurile îl coagulează									
Gelatină	Toate tipurile o lichefiază									
Ser coagulat	Toate tipurile îl lichefiază									

Legenda: *a* = producţie de acizi; *g* = producţie de gaze; + = pozitiv; — = negativ

Autoarea conchide că proprietățile biochimice nu pot servi la tipizarea tulpinilor. Chiar fermentarea glicerinei nu poate fi utilă deoarece tulpinile tipurilor A și D nu se comportau toate în același fel. Numai tulpinile tipului B au fost constante, adică nu fermentau niciodată glicerina.

Diferențierea acestor diverse tipuri s-a făcut, în special, prin mijloace imunologice, adică prin probe de neutralizare încrucișată. În schema alăturată, pe care o dăm după Zasedateleva, se observă, de exemplu, că un ser preparat cu toxina tipului A neutralizează numai toxina homoloagă și nu are nici o acțiune asupra toxinei altor tipuri.

Schemă privind relațiile antigenice dintre diversele tipuri de Cl. perfringens
(după Zasedateleva)



În schimb, un ser preparat cu toxinele B, C sau ovitoxicus neutralizează toxinele homoloage, dar în același timp neutralizează și toxine heteroloage și în special toxina tipului A. Reiese din aceste date că tulpinile B, C și ovitoxicus posedă fracțiile toxice ale tipului A, în formă și în cantitățile necesare pentru a provoca apariția în organism a anticorpilor neutralizanți. Toxinele secretate de tipul A și care sînt comune cu cele secretate de tipurile B, C și ovitoxicus nu sînt în stare să producă atîția anticorpi cît sînt necesari pentru a neutraliza efectul patologic al toxinelor B, C și ovitoxicus, toxine care, în comparație cu aceea a tipului A, au o mare putere patogenă. Mai departe, schema arată că toxina tipului D este neutralizată de un ser anti-D, dar și de un ser antiovitoxicus. Toxina D este identică din punct de vedere patogenic cu toxina ovitoxicus, dar totuși cele două toxine se deosebesc între ele din punct de vedere antigenic. Într-adevăr, așa cum se vede în schemă, toxina tipului D dă anticorpi specifici, adică care neutralizează numai toxina D, în timp ce toxina tipului ovitoxicus dă anticorpi neutralizanți atît față de toxina D, cît și față de toxina A. Toxina tipului ovitoxicus pare deci a fi mai complexă, ea incluzînd atît toxina D, cît și A.

Istoricul descoperirii tipurilor. Pînă în 1919 se cunoştea un singur tip de bacil perfringens și anume acel izolat din diverse procese patologice umane și care corespunde tipului A. În 1919 Gaiger, și în special, în 1928 Dalling, stabilesc că agentul unei afecțiuni intestinale a mieilor nou-născuți este un bacil care se aseamănă morfologic și cultural cu *Cl. perfringens* izolat de la om. Patogenitatea culturilor și filtratelor acestui germen este însă, comparativ, mult mai mare. În plus, așa cum a arătat Dalling (1928), toxina acestui bacil nu este neutralizată de un ser preparat cu *Cl. perfringens* uman. În schimb, toxina tipului uman este neutralizată de un ser preparat cu bacilul izolat de la miei. În fața acestor date, bacilul a fost considerat ca un nou tip sau specie și numit *Bacillus L. D.* (lamb dysentery Bacillus), *Bac. agni* sau tipul B al bacilului perfringens.

Lucrurile nu se opresc aici, căci în 1930 Ewen, în Anglia, descrie o boală a oilor adulte, o enterotoxiemie produsă de un tip de perfringens pe care îl numește *Bac. paludis* (mai tîrziu numit tipul C). Acest bacil este socotit inițial diferit de tipul A și tipul B și descris ca un tip aparte. Deosebirile s-ar referi tot la echipamentul toxic. Dacă între acest bacil și tipul A sînt într-adevăr diferențe remarcabile, apoi între tipul C și tipul B deosebirile sînt minime, și, așa cum afirmă Weinberg crearea a două tipuri aparte, B și C, nu este justificată. Cercetările făcute la noi în țară (I.P.I.A.) au confirmat acest punct de vedere: în plus, s-a putut constata că nu există pentru cele două tipuri, așa cum se credea inițial, o specificitate patogenică. Într-adevăr, tipul B a putut fi izolat nu numai din cazuri de dizenterie a mieilor, dar și din cazurile de enterotoxiemie a oilor adulte. Invers, tipul C s-a izolat nu numai de la oile moarte de enterotoxiemie, dar și de la miei de lapte morți cu leziuni de dizenterie anaerobă.

Descoperirea tipurilor B și C a fost urmată, în Australia, de identificarea a încă două tipuri de *Cl. perfringens,* și anume tipul D și ovitoxicus. Tipul D a fost izolat, în 1931, de la miei de Wildson, iar tipul ovitoxicus, în 1932, de Bennets, de la oi moarte cu simptome și leziuni de enterotoxiemie. După Oxer (1932) și din cazurile de rinichi moale se izolează tot *Bac. ovitoxicus.* Diferențele dintre tipul D și ovitoxicus se referă, în general, tot la echipamentul toxic, dar ele sînt minime și nu justifică separarea lor în două tipuri distincte. În fine, în 1943 se izolează de către Bosworth, de la viței morți cu simptome și leziuni, de enterotoxiemie, un alt tip de perfringens numit E, iar în 1949, de către Zeissler și Rassfeld un alt tip, găsit în enterita necrozantă la om, și numit F. Acesta din urmă, după Oakley (1949) secretă o toxină în totul asemănătoare cu a tipului B și C.

Pentru a se justifica crearea și menținerea tipurilor A, B, C, D și ovitoxicus s-au mai cercetat și invocat și alte proprietăți decît capacitatea toxică in vivo. Astfel, s-a afirmat că cele cinci tipuri diferă între ele din punct de vedere al conținutului în hemolizine active in vitro. Dalling a afirmat că tipul A și tipul C sînt de 10—20 de ori mai active decît tipul B.

Zasedateleva (1945), examinînd din acest punct de vedere tulpinile tip de colecție din Institutul „Tarasievici" din Moscova, constată și ea că tipurile A, C și ovitoxicus sînt mult mai puternic hemolitice decît tipurile B și D, dar cercetînd aceleași proprietăți la tulpinile izolate în

U.R.S.S. și tipizate de autoare nu mai găsește aceste diferențe ceea ce o determină să afirme că secreția de hemolizine este un caracter legat de tulpină și nu de tip și în consecință, această specie nu poate servi la tipizarea tulpinilor.

Reacțiile de aglutinare nu pot de asemenea fi folosite la tipizarea tulpinilor. Zasedateleva observă din acest punct de vedere, că tulpinile „tip", din colecții dau, cu serurile monovalente respective, reacții de aglutinare (în special aglutinarea rapidă pe lamă) specifice, dar constată, în același timp, că există tulpini care nu posedă aglutinogeni și nu sînt deci aglutinate de serul tipului căruia aparțin din punct de vedere al echipamentului toxic. Gürtürk (1952) a afirmat că diferențierea tipurilor s-ar putea face prin proba inhibării hemaglutinării cu seruri specifice de tip.

Weinberg și Guillaumie au propus ca bacilii perfringens izolați de la ovine să constituie două tipuri, și anume: tipul I, în care să fie cuprinși bacilii B și C și tipul II, în care să intre bacilii D și ovitoxicus.

Un punct de vedere similar împărtășește și Zasedateleva, care împarte tipurile de perfringens în două grupe: o primă grupă cuprinde tipurile puțin patogene și puțin toxice și a doua tipurile B și C, adică tipurile foarte patogene și foarte toxice. În sprijinul tezei sale, autoarea invocă, pe lîngă gradul de patogenitate al fiecărui tip, și tabloul clinic și anatomopatologic produs la animale de cele două grupe de tulpini. Astfel, tulpinile tipurilor B și C dau, în cazul inoculării intravenoase la iepure (0,1 ml într-o cultură de 6 ore), convulsii, asfixie și moarte în 17—20 de minute. În condiții similare, tulpinile tipurilor A și D produc moartea numai în doză de 0,5—1 ml, numai după 18—20 de ore, și moartea nu este precedată de convulsii. La cobai, în cazul inoculării intramusculare, tulpinile tipurilor B, C și D produc mioliză; tipul A nu produce o asemenea leziune.

În concluzie, diferențierea tipurilor se poate face pe baza analizei echipamentului toxic al tulpinilor de *Cl. perfringens* după tabelul dat mai sus. O tulpină izolată și necunoscută ca apartenență de tip este examinată în vederea tipizării, din punct de vedere al echipamentului toxic. Pentru fiecare fracție toxică se recurge la o metodă potrivită de punere în evidență. Acest procedeu de tipizare este desigur foarte greoi și nu se poate aplica în mod curent tuturor tulpinilor ce se izolează. În plus, valoarea sa nu este absolută dat fiind că fracțiile toxice, așa cum au observat numeroși autori, se pot pierde (Oakley și Wárrack, 1953). Folosind reacția de seroprecipitare, cu un antigen extras din corpii bacterieni după metoda Lancefield, Stamatin, Ungureanu și Grecianu (1956) reușesc să identifice cu destulă precizie tipurile căror aparțin diversele tulpini izolate din procese patologice de la animale.

Activitatea filtratelor, in vivo, la animale de experiență

Șoarecele este foarte sensibil; doza minimă letală variază în raport cu calea de inoculare. O doză minimă letală de filtrat, injectată pe cale subcutană sau intramusculară, omoară șoarecele în 2—3 zile; animalul prezintă în timpul vieții un edem local, cu tendința de a se întinde în regiunile învecinate, apoi dispnee, parezii și paralizii musculare, localizate în special la extremități, iar, după moarte, necroza și lichefierea mușchilor regiunii injectate, degenerescența ficatului, congestia rinichiului, hipertrofia splinei, serozitate abundentă, în general hemoragică, în cavitățile seroase ; lichid de culoarea bilei în intestinul subțire. Dozele mai mari de filtrat — 4 sau 8 d.l.m. — omoară șoarecele în cîteva ore ; animalul în acest caz nu prezintă leziuni locale manifeste.

Toxina este foarte activă pe cale intravenoasă și această cale este cea mai propice pentru titrarea unei toxine. Doza minimă letală, pe această cale, este în general foarte mică. Astfel, unele probe de toxină (lichid obținut prin centrifugarea unei culturi de 18 ore) pot omorî șoarecele chiar în doza de 0,005 ml sau mai puțin. Doza minimă letală omoară șoarecele în cîteva ore ; dozele mai mari îl omoară cu regularitate în 2—10 minute ; moartea este precedată de dispnee gravă și fenomene de agitație vie, datorită asfixiei. Leziunile găsite la autopsie constau din congestia ficatului, pulmonului și masei intestinale.

Șobolanul este receptiv. Calea intraperitoneală pare cea mai accesibilă și cea mai severă. Doza minimă mortală pe această cale este de 0,1—0,5 ml de toxină lichidă (lichid de centrifugare). Moartea este precedată de asfixie, extensiunea membrelor posterioare și survine la 1—10 ore după injecție. La autopsie se găsesc leziuni congestive ale organelor abdominale. Pulmonul este uneori palid.

Cobaiul se comportă față de toxinele *Bac. perfringens* ca și șoarecele. La cobai, lichidul edemelor locale, în cazul inoculării subcutane, este mai puțin hemoragic ca la șoarece. Doza minimă letală este de obicei de 1—2 ml. Filtratele obținute din unele tulpini patogene, omoară cobaiul de 400 g pe cale intravenoasă, în doză de 0,25—1 ml. Animalul moare în cîteva minute după injecție prezentînd simptome asemănătoare cu cele observate în șocul anafilactic. Tulburările respiratorii domină tabloul clinic și animalul moare prin sincopă respiratorie. La autopsie organul care atrage atenția este pulmonul ; el este mult mărit și dilatat. Ficatul este congestionat. Sîngele coagulează încet.

Iepurele moare în urma injecției intravenoase a unei singure d.l.m., în cîteva ore ; 4 sau 8 d.l.m. îl ucid în 30—40 de minute. Animalul, după injecție este neliniștit ; prezintă tremurături musculare, dispnee ; în cazul cînd animalul rezistă cîteva ore, apar stări de pareză, diaree și hematurie. În ultima fază stă culcat, capul îl ține pe spate, musculatura corpului este flască ; moartea survine în urma unei scurte convulsii. La autopsie nu se găsește nimic caracteristic ; în cavitatea peritoneală este adeseori prezent un lichid sero-sanguinolent, în cantitate însemnată ; urina de obicei sanguinolentă.

Porumbelul este omorît, pe cale intramusculară, în 4—8 ore sau mai puțin ; d.l.m. variază de la 0,1 la 0,001 ml.

Infecția experimentală. Tulpinile izolate din diversele procese morbide sînt în general patogene pentru animalele de experiență.

Cobaiul este animalul cel mai potrivit pentru asemenea cercetări. Doza minimă letală variază de la o tulpină la alta și este cuprinsă de obicei între 0,01 și 1 ml de cultură de 24 de ore în bulion. In general, tulpinile izolate de la om (tipul A) sînt mai puțin patogene ca cele izolate de la oaie (tipurile B și C). Acestea din urmă pot omorî cobaiul în doză de 1/200—1/400 și chiar mai puțin. De asemenea, aceste tulpini omoară porumbelul în doze foarte mici — 1/500—1/1 000 ml cultură de 24 de ore în bulion carne. Evoluția infecției este de 12—48 de ore. Cobaii inoculați subcutan sau intramuscular — de obicei în mușchiul coapsei — prezintă cîteva ore după injecție un edem local ; pielea la început roșie devine mai tîrziu cianotică-brună, iar perii se detașează cu ușurință de pe pielea regiunii edemațiate. Pe măsură ce edemul progresează, starea generală a animalului se agravează : respirația devine dispneică, iar musculatura flască. La autopsie se constată leziuni locale și generale. Astfel, pielea din regiunea injectată este sub tensiune și de culoare brună. Secționînd pielea care acoperă tumefacția, ies gaze cu miros de hidrogen sulfurat ; țesuturile regiunii injectate sînt mai mult sau mai puțin distruse, topite, digerate ; gradul de mioliză este în raport cu capacitatea proteolitică a tulpinii ; mușchii, în cazul injecției cu o tulpină puternic miolitică, sînt sfărîmicioși dizlocați ; resturile de mușchi și țesuturi sînt dispersate într-un lichid abundent, de culoare roșie-murdară ; picături mici de grăsime plutesc pe suprafața lichidului. Regiunea învecinată locului de inoculare este edemațiată și infiltrată cu bule fine de gaze ; mușchii striați sînt decolorați, palizi. În cavitatea peritoneală se găsește o cantitate mare de lichid de culoare roz, cu picături de grăsime la suprafață. Organele interne sînt congestionate. Cînd infecția durează mai multe zile, pielea de la locul de inoculare se necrozează formînd escară, iar leziunile hepatice sînt grave și reprezentate prin focare necrotice.

Bacilii, se găsesc în toate cazurile în lichidul edemului local sau peritoneal, și pot fi izolați constant din sînge.

Hemoculturile sînt pure, cînd boala a durat un timp scurt ; din contra, bacilul perfringens este asociat cu alți germeni, anaerobi sau aerobi, sau poate fi chiar absent cînd boala a durat mai mult timp.

Tulpinile puțin patogene nu omoară regulat cobaiul, deși unele din ele pot produce edem local, necroza pielii și escară. În aceste cazuri, asocierea unor asemenea tulpini cu adrenalină poate înlesni dezvoltarea unei infecții mortale (Brocard, 1940). Adrenalina produce la locul de inoculare o ischemie, creindu-se astfel condiții favorabile multiplicării germenului.

Iepurele este mai puțin sensibil decît cobaiul. Tulpinile chiar foarte virulente, nu produc uneori decît un edem local, trecător ; alteori ele provoacă un edem durabil, antrenînd mortificarea pielii și escară ; cicatricea se vindecă încet ; unele animale slăbesc și mor, prezentînd, în ultima fază a bolii, tulburări respiratorii și parezie. La animalele moarte, la locul de injecție, se găsește o serozitate galbenă-citrină, și zone necrotice în ficat. Hemoculturile sînt pozitive. Pe cale intravenoasă, dozele mari, 7—10 ml, îl omoară în cîteva minute, iar dozele mai mici în cîteva ore.

Șoarecele este foarte receptiv pe cale intravenoasă, dar este puțin sensibil pe cale subcutană. Pe această din urmă cale, se obțin leziuni locale — edem, escară — adeseori, vindecabile.

Pe cale digestivă se poate produce o toxiinfecție mortală atunci cînd cultura sau toxina (A, B, C sau D) este administrată, în doză mare direct în stomac, cu sonda (Nasledisevа). Doza activă în aceste condiții este de 100—5 000 de ori mai mare ca aceea care omoară animalul pe cale intramusculară.

Șobolanul este puțin sensibil.

Porumbelul este foarte receptiv; d.l.m. variază la 0,001 la 0,05 ml. Moartea urmează 10—16 ore după injecția intramusculară a culturii integrale. La autopsie: edem gazos la locul de inoculare, cu germeni extrem de numeroși în leziune. Hemoculturile, cît și culturile din măduva osoasă sînt de regulă negative și germenul nu se poate constant izola decît din leziunea locală.

Infecția naturală

Bacilul perfringens este agentul principal al gangrenelor gazoase de origine traumatică la om și unele specii animale, cal, cîine etc. Plăgile bovinelor și ovinelor nu se infectează de obicei cu acest anaerob.

Frecvența bacilului în gangrenele traumatice umane variază de la 44 la 94% (vezi literatura în tratatul lui Weinberg și col., și în lucrările lui Bonciu și col., 1941, Ștefănescu și Gorun, 1956).

La om, bacilul perfringens a fost găsit în gură și izolat din abcese și carii dentare.

În afară de gangrenele traumatice, bacilul poate produce, la miei, viței, purcei, oi adulte, iepuri, cîini și chiar la om stări patologice care evoluează ca toxiemii de origine intestinală și au caracter sporadic sau enzootic. Dintre aceste toxiemii, două prezintă o importanță economică mai mare, și anume: dizenteria mieilor nou-născuți și enterotoxiemia tineretului ovin și a oilor adulte.

Dizenteria anaerobă a mieilor

Dizenteria anaerobă a mieilor este o toxiinfecție produsă de o varietate a *Cl. perfringens,* toxiinfecție care apare la animalele tinere, de regulă în primele zile după naștere, și care se caracterizează clinic prin tulburări gastrointestinale, uneori și nervoase, iar anatomo-patologic, printr-o enterită hemoragică și necrotică.

Boala a fost semnalată întîi în Anglia, în cursul secolului al XIX-lea. În secolul al XX-lea a fost întîlnită și descrisă și în alte țări europene; Rusia (Timcenko, 1914), Iugoslavia, Grecia, Bulgaria, Turcia, precum și în alte continente: cele două Americi, Africa, Australia. În țara noastră, boala a fost identificată de mult timp, în laboratoarele de diagnostic. Un studiu al bolii și tulpinilor, precum și al metodelor de prevenire a fost făcut în ultimul timp la I.P.I.A.

Pînă în 1928, toate enteritele observate la miei, indiferent de etiologia lor, erau numite dizenterii. Primele cercetări privind etiologia bolii sînt făcute de Geiger (1919), autorul ajungînd la concluzia că boala este produsă de un colibacil. În 1923, Geiger și Dalling găsesc însă în cadavrele mieilor morți cu simptome de dizenterie, pe lîngă un colibacil, și un anaerob aparținînd speciei *Cl. perfringens.*

Rolul acestui bacil în producerea bolii este stabilit de Dalling (1928), care dovedește că bacilul reproduce infecția la miei și că infecția poate fi prevenită cu un ser preparat cu germenul respectiv. Aceste cercetări au fost confirmate apoi de către numeroși cercetători, în diferite țări. În U.R.S.S. studii importante asupra dizenteriei anaerobe au fost făcute de Polîkovski (1937), iar lucrări de ansamblu au fost publicate de Polîkovski (1952) și col. și Kovalenko (1954).

Importanță economică. Dizenteria anaerobă produce pagube însemnate printre miei. Dalling afirmă că în Anglia mor anual între 50 000 și 150 000 de miei. În U.R.S.S., Polikovski, Kovalenko și alții constată că în unele turme mortalitatea poate atinge procentul de 40—50%. În țara noastră, pierderile în unii ani și în unele efective sînt însemnate. Astfel, în 1952, în trei turme cu un total de 14 086 de miei nou-născuți au murit de dizenterie 1 797 de miei, adică 12,7%. În 1953, în patru turme, cu un efectiv total de 17 559 de miei nou-născuți, au murit de dizenterie 1 030, adică 5,9%. În 1954, în alte patru turme, cu un efectiv total de 13 388 de miei nou-născuți mor de dizenterie 1 638, adică 14,4%.

Etiologie. Se consideră că sînt morți de dizenterie anaerobă mieii în intestinul cărora se găsește bacilul perfringens și mai ales toxina sa. Pe teren, desigur că sînt atribuite dizenteriei anaerobe și unele cazuri care prezintă o dizenterie care nu este produsă de *Cl. perfringens.* În special unele rase de colibacili pot provoca la miei nou-născuți simptome și chiar leziuni asemănătoare cu cele întîlnite în dizenteria anaerobă.

Dizenteria anaerobă este produsă de *Cl. perfringens.* Această afirmație se sprijină atît pe constatarea că bacilul se găsește și se poate izola de la miei morți cu simptome și leziuni de dizenterie, cît și pe faptul că boala poate fi reprodusă prin administrarea pe cale bucală a conținutului intestinal și a culturilor pure.

În ceea ce privește tipul de bacili perfringens, care poate produce boala, datele pe care le posedăm nu sînt încă concludente. Dacă din cazurile de dizenterie, Dalling izolează contant tipul B, apoi Zasedateleva, examinînd asemenea tulpini, găsește că 25 erau de tip B, 3 de tip A și 1 de tip D. În țara noastră, Ungureanu și Greceanu au tipizat 8 tulpini de *Cl. perfringens* izolate din cazuri de dizenterie : 7 erau de tip B și 1 de tip C.

În S.U.A., Griner și colaboratorii (1953) au găsit la miei morți de dizenterie tipul C.

În apariția dizenteriei la miei intervin probabil pe lîngă bacilul perfringens și alți factori nespecifici legați de organismul receptiv, de condițiile de igienă, de felul cum a fost alimentată mama în cursul gestației, de felul laptelui pe care îl suge mielul etc. Acești factori au fost puțin studiați și nu se știe în ce măsură intervin în producerea bolii. Amintim doar că diferiți crescători din țara noastră au remarcat că mieii fătați de unele oi se infectează și mor, și că dînd să sugă la aceste oi alți miei și aceștia se îmbolnăvesc și mor. Lucrurile se petrec ca și cum anumite oi ar transmite, prin laptele lor infecția la miei. O asemenea transmitere nu ar fi imposibilă. Este posibil, într-adevăr, că oile purtătoare de bacili perfringens patogeni să aibă acești bacili pe mameloane, sau, după unii autori, chiar în lapte care-i vehiculează în tubul digestiv al mieilor. De altfel, o serie de autori ca Debonera (1934), Polîkovski (1937—1938) se raliază acestui punct de vedere. Dar tot așa de bine s-ar putea explica infecția și prin însușirile laptelui oilor receptive, prin dispepsiile pe care un anumit lapte l-ar produce la miei, dispepsii care ar crea condiții favorabile multiplicării bacilului perfringens. Pentru a lămuri această problemă ar fi necesar să se cerceteze paralel, conținutul materiilor fecale ale oilor din turme neinfectate și infectate, pentru a se vedea în ce proporție oile sînt purtătoare de bacili patogeni.

Reproducerea experimentală a infecției. Datele, asupra posibilităților de reproducere a dizenteriei mieilor, cu material patologic recoltat din intestinul mieilor morți de această boală, sau cu culturi toxigene de *Cl. perfringens* tip B, sînt contradictorii. Kovalenko de exemplu, afirmă că dizenteria anaerobă a mieilor poate fi cu ușurință reprodusă, folosind ca material infecțios fie conținutul intestinal, fie culturi toxigene de tip B. Infecția se realizează pe cale bucală. Mai mult încă, după Polîkovski, bacilul perfringens de tip B are o afinitate particulară pentru intestin. Administrat chiar pe cale parenterală, la miei sau la animale de experiență, el produce o infecție generală, însoțită de alterarea manifestă a tractusului digestiv. La cobaii nou-născuți se poate reproduce o dizenterie administrînd culturile per os (Debonera, 1934, Polîkovski, 1952). În cadrul I.P.I.A., Ungureanu și Greceanu, au încercat în repetate rînduri să reproducă infecția la miei nou-născuți. Rezultatele lor au fost de cele mai multe ori negative, mai ales în administrarea pe cale bucală. Astfel, în primăvara anului 1955, plecînd de la o observație anterioară în care s-a putut reproduce infecția pe cale rectală, s-au administrat, la cîte un miel în vîrstă de 3 zile, pe cale rectală, următoarele produse: 1) cultură de perfringens singură (20 ml); 2) cultură de *Esch. coli* singură (20 ml); 3) amestec în părți egale de cultură de perfringens cu cultură de *Esch. coli* (20 ml), autorii nereușind în nici un caz să reproducă infecția. În alt caz, s-a administrat de asemenea la un miel de 3 zile, intrarectal, 40 ml de cultură de bacil perfringens, fără a putea obține infecția. Animalele au prezentat cîteva ore după administrare doar o ușoară ascensiune termică și apoi totul a intrat în normal. Cultura de *Cl. perfringens* folosită în aceste experiențe era izolată dintr-un caz de dizenterie de la miel și era foarte toxică (d.l.m. pentru șoarece 1/800 ml). De asemenea tulpina de *Esch. coli* a fost izolată în primăvara anului 1955, tot dintr-un caz de dizenterie și era destul de patogenă pentru șoarece (d.l.m., pe cale subcutană, 0,5 ml, iar pe cale intraperitoneală 0,1 ml, cultură în bulion de 24 de ore).

Stamatin și colaboratorii (1956), recurgînd însă la un artificiu experimental, au reușit să reproducă constant infecția de tip enterotoxiemic la o serie de specii animale: cîine, iepure, oaie. Într-adevăr, administrarea per os a culturii de *Cl. perfringens* toxigen este totdeauna urmată de instalarea infecției enterotoxiemice, dacă, paralel cu administrarea acestei culturi, animalele sînt injectate intravenos cu o doză — în general submortală — de toxină pasteurelică sau salmonelică. Aceste toxine produc tulburări grave în fiziologia aparatului digestiv, creînd astfel condiții favorabile multiplicării bacilului perfringens în intestin și difuzării ulterioare în organism.

Este probabil că asemenea tulburări în funcțiunile tubului digestiv pot fi produse și prin intervenția altor factori. Ceea ce reiese din aceste experiențe, în mod clar, este că acțiunea patogenă a bacilului perfringens se desfășoară numai pe un teren pregătit prin acțiunea altor factori morbizi. Rămîne de precizat natura factorilor care au rolul pregătitor în enterotoxiemia naturală a mieilor, oilor, ca și altor specii animale.

Materialul infecțios. Bacilul perfringens, așa cum rezultă din numeroase cercetări, este foarte răspîndit în sol. El se izolează de asemenea constant din materiile fecale ale omului și animalelor. Bacilii, astfel izolați, sînt de cele mai multe ori lipsiți de virulență și de toxicitate, sînt deci apatogeni. Hanganu (1949) a reușit totuși să izoleze, din fecalele oilor normale, sacrificate în abator, tulpini patogene de bacil perfringens. Plecînd de la 110 probe de materii fecale, autorul a reușit să izoleze 79 de tulpini, din care 19 erau patogene pentru șoareci. Dintre aceste 19 tulpini el a găsit unele patogene pentru cobai sau porumbei în doză de 0,1 ml de cultură de 24 de ore în bulion cu carne. Unele tulpini erau și toxigene, d.l.m. pentru șoarece, pe cale intravenoasă, fiind pînă la 0,01 ml.

Rezultă din aceste cercetări că pe lîngă bacilii perfringens nepatogeni se pot găsi în intestin și patogeni. Nu se poate spune însă, din cauza lipsei unor cercetări bacteriologice îndreptate în această direcție, dacă bacilii patogeni se găsesc numai la unele animale sau se găsesc la toate animalele, dacă în cazul care ne interesează ei sînt absenți la oile din turmele în care boala nu apare și sînt prezenți la oile din turmele în care boala își face în mod constant apariția. Lămurirea acestor date ar prezenta o deosebită importanță din punct de vedere al elucidării rolului pe care îl are bacilul și rezistența organică în apariția bolii. Acolo unde boala apare este sigur că bacilul este prezent și el se găsește în materiile fecale ale oilor-mamă, materii care constituie izvorul principal de infecție. În afară de materiile fecale, desigur că și solul îmbogățit în germeni patogeni, tot prin eliminatorii animali, poate adăposti bacilii și constitui materialul infecțios pentru miei.

Poarta de intrare. Bacilii pătrund în organism pe cale digestivă. Această afirmație se sprijină atît pe o serie de cercetări experimentale din care rezultă că administrarea materialului infecțios pe cale bucală poate produce infecția la miei, cît și pe tipul clinic și anatomo-patologic al infecției. Boala evoluează, într-adevăr, ca o toxiemie intestinală. Absența oricăror leziuni în regiunea ombilicală arată că infecția nu se poate face pe această cale.

Patogenie. Bacilii pătrunși per os ajung în intestinul subțire, unde, atunci cînd găsesc condiții favorabile se multiplică. Multiplicarea este însoțită de o secreție abundentă de toxină, care se găsește în intestin în cantitate mare, dar despre care nu știm dacă și în ce măsură, traversează peretele intestinal, pentru a se răspîndi în organism. Acționînd direct asupra centrilor nervoși sau prin intermediul plexurilor din peretele intestinal, toxina provoacă, pe cale nervoasă, o stază puternică, în special în rețeaua vasculară a intestinului urmată de rupere de vase și hemoragii intense.

Simptome. Boala apare la miei în primele zile după naștere și cele mai multe cazuri survin la miei în vîrstă de 1—10 zile și numai foarte rare cazuri se întîlnesc la miei mai mari de 10 zile. Perioada de incubație este foarte scurtă, cîteva ore. Infecția debutează prin diaree, febră și tulburări generale. Materiile fecale sînt subțiri, apoase; inițial sînt de culoare gălbuie, pentru ca în curînd să devină brune sau chiar sanguinolente. Temperatura corpului poate atinge și depăși 41° C. Starea generală este foarte rea: mielul este moale, nu suge, are lîna zbîrlită, pîntecele supt și stă încovoiat. Face mereu eforturi de defecare, geme, prezintă tenesme și prolabarea rectului. Coada și membrele posterioare sînt murdărite de fecale. Moartea poate surveni în primele 36—48 de ore după apariția primelor simptome. Alteori boala durează doar cîteva ore. În formele de boală cu o evoluție mai lentă își fac apariția, pe lîngă tulburările gastrointestinale, și manifestări nervoase, care se traduc, în special, prin menținerea capului în poziții anormale (opistotonus), mișcări incoordonate, salivație abundentă etc.

Modificări anatomice. Cadavrul prezintă o stare de slăbiciune extremă. Lîna de pe coadă și membrele posterioare este murdărită de materii fecale. La deschiderea cadavrului se pot găsi următoarele leziuni: edem al țesutului conjunctiv subcutan din regiunea ombilicală și abdominală (poate lipsi); lichid și coaguli de fibrină în cavitatea toracică; vasele coronare injectate; sufuziuni sanguine pe șanțul auriculo-ventricular; lichid serosanguinolent în cavitatea peritoneală; rinichii congestionați; ficatul degenerat; splina normală ca volum, dar cu hemoragii subcapsulare; ganglionii mezenterici edemațiați și hemoragici; hemoragii izolate pe mucoasa rumenului și jejunului; hemoragii întinse, confluente, pe mucoasa ileonului; în formele cu o durată mai lungă se găsesc focare necrotice tot pe mucoasa ileonului; conținutul ileonului este de regulă net hemoragic, cu aspectul unui lichid vîscos, de culoare roșie-brună.

Diagnostic. Pe teren, dizenteria mieilor poate fi diagnosticată prin examenul clinic și anatomo-patologic al mieilor bolnavi și morți. Pentru a preciza etiologia infecției se impune însă examenul de laborator. În acest scop, se vor trimite la laborator cadavre întregi și cît mai proaspete. La laborator, pe lîngă o autopsie amănunțită se vor face frotiuri și culturi pe medii aerobe și anaerobe din organele interne, măduva osoasă și conținutul intestinal (ileon). În frotiurile din conținutul intestinal, în caz de dizenterie, se găsește o floră aproape exclusiv constituită din bacili perfringens. Culturile din organele interne și măduva osoasă pot fi sterile, dar adeseori se izolează, cel puțin la noi în țară, un colibacil și foarte rar bacilul perfringens. În culturile din conținutul intestinal se dezvoltă bacilul perfringens. Pentru a-l izola în stare pură, este recomandabil ca mediile, îndată după însămînțare, să fie încălzite la 80°C timp de 5—10 minute. Tulpina de perfringens izolată în stare pură, este examinată din punct de vedere al toxicității; se constată că unele tulpini sînt toxigene, în timp ce altele sînt lipsite de toxicitate. Tot în vederea stabilirii diagnosticului de dizenterie anaeroabă se examinează, din punct de vedere al toxicității, conținutul ileonului. În acest scop, conținutul se diluează cu un volum egal de apă fiziologică, apoi amestecul se centrifughează $^1/_2$ oră la o viteză de 3 000 t/m. Lichidul supernatant astfel obținut se inoculează ca atare și diluat 1/2, 1/4, 1/8 etc. la șoareci, pe cale intravenoasă și în doză de 0,5 ml. În cazul cînd șoarecii mor scurt timp (cîteva minute pînă la cîteva ore) după injecție, pentru a dovedi că moartea se datoreşte toxinei perfringens se face proba neutralizării lichidului toxic cu ser antiperfringens de tip B. În acest scop, o cantitate de lichid toxic se amestecă cu o cantitate de ser şi după 1 oră la 37°C, amestecul este inoculat tot pe cale intravenoasă, la şoareci. În cazul în care în conţinutul intestinal al mieilor se găseşte toxină perfringens, şoarecii inoculaţi cu amestec de conţinut intestinal şi ser antiperfringens nu trebuie să moară; ei mor dacă în conţinutul intestinal există un alt produs toxic pentru şoareci. Rezultatele unor determinări privind toxicitatea conţinutului intestinal şi capacitatea neutralizantă a serului perfringens faţă de acest conţinut pot fi văzute în alăturatele tabele, luate după Stamatin şi Ungureanu (1954).

Tabelul 61

Determinarea toxicităţii conţinutului intestinal provenind de la miei morţi cu simptome şi leziuni de dizenterie anaerobă

Numărul probei	Diluţia conţinutului intestinal	Cantitatea inoculată ml	Calea de inoculare	Numărul de şoareci inoculaţi	Rezultat
1	1/1	0,5	intravenos	2	+ 1 minut + 1 ,,
	1/10	0,5	,,	2	+ 2—3 minute + 2—3 ,,
	1/20	0,5	,,	2	+ 3—5 ,, + 3—5 ,,
2	1/4	0,5	,,	2	+ 3—4 ,, + 3—4 ,,
	1/8	0,5	,,	2	+ 15 ,, Rezistă
	1/16	0,5	,,	2	,, ,,
3	1/4	0,5	,,	2	+ 5 ,, + 5 ,,
	1/8	0,5	,,	2	+ 10 ,, + 10 ,,
	1/16	0,5	,,	2	+ 10 ,, + 10 ,,
4	1/4	0,5	,,	2	+ 2 ,, + 2 ,,
	1/8	0,5	,,	2	+ 3—4 ,, + 3—4 ,,
	1/16.	0,5	,,	2	+ 3—4 ,, + 3—4 ,,
	1/32	0,5	,,	2	+ 15 ,, + 1 oră 30 minute

Tabelul 62

Capacitatea neutralizantă a serului perfringens de tip B față de toxicitatea conținutului intestinal al mieilor morți cu simptome și leziuni de dizenterie

Numărul probei	Conținutul intestinal diluat 1/1 ml	Cantitatea de ser imun ml	Ser fiziologic ml	Volum final ml	Cantitatea inoculată ml	Calea de inoculare	Numărul șoarecilor inoculați	Rezultat
1	0,5	1 Diluat 1/5	1,0	2,5	0,5	Intra-venos	2	+18 ore R
	0,5	Martor fără ser	0,5	1,0	0,5	„	2	+ 2 minute + 2 „
2	1,0	1,0	0,5	2,5	0,5	„	2	+ 10 „ + 10 „
	0,1	0,5	1,9	2,5	0,5	„	2	+ 5 „ + 2 „
	0,1	0,5 ser normal	1,9	2,5	0,5	„	2	+ 18 ore + 48 „
	Diluat 1/8	Martor toxină	—	—	0,5	„	2	+ 18 „ + 48 „
3	1	1,0	0,5	2,5	0,5	„	2	Rezistă
	1	0,5	1,0	2,5	0,5	„	2	„
	1	0,5 ser normal	1,0	2,5	0,5	„	2	+ 3 minute + 4 „
	diluat 1/16	Martor toxină	—	—	0,5	„	2	+ 2 ore + —
4	1	1	0,50	2,5	0,5	„	2	Rezistă
	1	0,50	1,00	2,5	0,5	„	2	„
	1	0,25	1,25	2,5	0,5	„	2	„
	1	1 ml ser normal	0,50	2,5	0,5	„	2	+ 2 minute + 2 „
	Diluat 1/16	Martor	—	—	0,5	„	2	+ 2 „ + 2 „
	Diluat 1/32	Toxină	—	—	0,5	„	2	+ 5 „ +1 oră 30 minute

Profilaxia dizenteriei anaerobe a mieilor

Măsuri specifice. *Vaccinarea* oilor-mame cu o anacultură a bacilului perfringens de tip B s-a arătat, în condiţii experimentale şi de teren, de un real folos în combaterea acestei boli. Metoda a fost preconizată şi aplicată întîi de Dalling, care constată că într-o turmă de oi vaccinate s-au născut 514 miei, din care au murit 12 (2,4%), iar în turme nevaccinate, din 1 627 de miei, au murit 393 (24,1%). Acelaşi autor, printr-o dublă vaccinare (prima la începutul gestaţiei şi a doua către sfîrşitul ei), obţine rezultate şi mai bune, procentul de mortalitate fiind de 0,87% în turmele vaccinate şi de 8,04 la oile nevaccinate din aceeaşi fermă. Rezultate tot aşa de bune obţine şi Polîkovski în U.R.S.S. Autorul a folosit un vaccin constituit dintr-o cultură de 18 ore de bacilul perfringens tip B, inactivată prin formol 0,4% şi menţinută la 37°C timp de 14—15 zile. Cu un asemenea vaccin, autorul a inoculat cu 10—12 zile înainte de fătare o singură dată sau de două ori un număr de 10 226 oi, lăsînd nevaccinate 9 368 de animale. În lotul oilor vaccinate s-a înregistrat o mortalitate de 0,2%, iar în lotul celor nevaccinate mortalitatea a fost de 2,1%.

În R.P.R., din iniţiativa I.P.I.A., s-au vaccinat, în primăvara anului 1955 oile din cinci gospodării de stat, în care, în anii precedenţi, au fost numeroase cazuri de dizenterie. Rezultatele, aşa cum se poate vedea şi în tabelul 63, au fost foarte bune. Într-adevăr, în unele turme, în care în mod regulat, în anii precedenţi (1952—1954), mieii mureau în proporţii importante de dizenterie; în urma vaccinării, mortalitatea s-a redus la 0.

Prepararea vaccinului. Vaccinul se prepară din tulpini puternic toxigene de *Cl. perfringens* de tip B, izolate de la miei morţi cu simptome şi leziuni de dizenterie. Tulpinile, în vederea preparării vaccinului, se însămînţează în bulion glucozat 0,1%; după o incubaţie de 18—24 de ore la 37°C culturile se controlează în ce priveşte puritatea şi conţinutul în toxină (d.l.m. pentru şoarece) şi apoi se formolează 0,4—0,6%. Culturile formolate rămîn 4—6 zile la 37°C, apoi se fiolează şi se controlează sterilitatea şi inocuitatea. Proba sterilităţii se face prin însămînţări pe medii aerobe şi anaerobe, iar proba inocuităţii prin injecţii la cobai (3—5 ml) şi eventual la oi.

Vaccinarea oilor. Oile gestante se injectează de două ori la interval de 10—15 zile. Vaccinarea se face cu 1 lună înainte de a începe fătările în turmă. Prima injecţie se face cu 2 ml, iar a doua cu 3 ml. Inoculările se fac pe cale subcutană în regiunea axilară sau pe faţa internă a coapsei. Animalele inoculate prezintă uneori, în primele 24 de ore după injecţie, o reacţie locală şi adeseori şchioapătă de membrul injectat. Reacţii generale pot fi prezente şi ele se traduc prin febră (40—41,5°C). Reacţiile generale, ca şi cele locale se amendează în 2—3 zile.

Mecanismul acţiunii vaccinului. Faptul că vaccinul antiperfringens dă rezultate bune în prevenirea dizenteriei mieilor, arată rolul important, dacă nu decisiv, pe care bacilul perfringens îl are în apariţia bolii. Cercetările experimentale, făcute în scopul de a lămuri mecanismul de acţiune a vaccinului, au dovedit că oile vaccinate conţin anticorpi neutralizanţi faţă de

Tabelul 63

Mortalitatea mieilor de dizenterie în cîteva turme de oi şi rezultatele vaccinării (după Ungureanu şi col. 1956)

Gospodăria de stat	1952*		1953*		1954*		1955*	
	Total miei născuți	Total miei morți de dizenterie	Total miei născuți	Tătal miei morți de di. zenterie	Total miei născuți	Total miei morți de dizenterie	Total miei născuți	Total miei morți de dizenterie
F Regiunea Constanța	6 800	585 (8,6%)	7 838	315 (4%)			9 854	0
T Regiunea Constanța	6 019	635 (10,5%)	7 141	412 (5,7%)	6 210	641 (10,3%)	6 475	0
F Regiunea Craiova			1 238	90 (7,2%)	814	100 (12,2%)	999	27 (2,7%)
S Regiunea Constanța	1 267	577 (45,5%)	1 342	223 (16,6%	1 557	487 (31,2%)	2 099	0
P Regiunea Constanța					4 807	574 (11,9%)	5 690	0

* In anii 1952, 1953 şi 1954 oile-mamă nu au fost vaccinate ; în 1955 s-a procedat la vaccinarea înainte de fătare, a oilor-mamă.

toxina tipului B, anticorpi pe care îi transmit mielului îndată după naştere, prin colostru. Polîkovski şi Fomina (1941) au constatat că:

1. Oile vaccinate de două ori conțin anticorpi antiperfringens în serul lor sanguin, astfel că 0,2 ml de ser neutralizează 2 d.l.m. de toxină pentru şoarece. Anticorpii apar după 14 zile de la vaccinare şi persistă pînă la 105 zile.
2. Zerul laptelui provenind de la oi vaccinate, conține de asemenea anticorpi antiperfringens.
3. Serul sanguin al mieilor care provin din oi vaccinate şi sug lapte de la oi vaccinate conține la fel anticorpii antiperfringens, decelabili prin neutralizări pe şoarece.

La concluzii similare ajung Katich şi Dimitrijewitch (1954).

Reiese din aceste date că vaccinul conferă o imunitate solidă oilor gestante, care se transmite pasiv prin lapte şi la miei. Aceştia, datorită anticorpilor antiperfringens pe care îi obțin de la mamă, sînt la adăpost de infecție.

Serumizarea. Serul imun a fost preconizat și folosit în prevenirea dizenteriei anaerobe a mieilor de Dalling, care a constatat că inocularea mieilor în primele 2 ore după naștere, cu un bun ser imun, dă rezultate pozitive. Astfel, într-un efectiv infectat procentul de mortalitate a fost de 0,44 la miei serumizați (1 122 de miei) și de 17,2% la cei neserumizați (1 241 de miei). Serul imun a fost folosit, în condiții experimentale și de teren, și în U.R.S.S., inițiatorul introducerii acestui produs fiind Polîkovski. In condiții experimentale, el a remarcat că din 469 de miei serumizați au murit 12, iar din 890 neserumizați au murit 126. Față de aceste rezultate, în U.R.S.S. s-a introdus serul imun în scopul de a preveni dizenteria mieilor. El se aplică în turme nevaccinate și în care a apărut boala. Mieii se inoculează în primele 2 ore după naștere cu 3—5 ml de ser, pe cale subcutană. Imunitatea conferită durează pînă la 15 zile, adică atît cît este necesar ca mielul să treacă prin perioada critică.

Măsuri nespecifice. Măsurile nespecifice au un rol important în prevenirea dizenteriei meilor. Rolul lor rezultă din constatarea că boala apare acolo unde există deficiențe de ordin alimentar sau igienic. De aici importanța care trebuie acordată alimentației oilor gestante și îngrijirii mieilor după naștere. Oile gestante trebuie să primească rații bine echilibrate din punct de vedere al conținutului lor în materii proteice, vitamine și săruri. O rație incompletă a oii-mamă se răsfrînge asupra fătului, care se naște debil și cu o capacitate redusă de rezistență și de adaptare la noile condiții de mediu. La deficiențele inerente fiziologiei, unui nou născut se mai adaugă deci deficiențe de ordin fiziopatologic, care măresc receptivitatea organismului față de diverșii microbi din mediu.

Măsurile de curățenie a staulelor, de adăpostire a mieilor față de diversele intemperii, sînt de asemenea de o importanță deosebită în prevenirea bolii. Staulele în care oile fată trebuie să fie curate, pentru că astfel se evită infectarea ugerului și apoi a fătului cu germeni patogeni eliminați de animale purtătoare. Mieii trebuie să fie feriți de ploi, ninsoare, știut fiind că acești factori climatici înlesnesc izbucnirea infecției. Adeseori, într-adevăr, boala își face apariția în urma schimbării timpului, în urma unei ploi, a unei deplasări sau a unui frig accentuat.

Tratament. În tratamentul dizenteriei mieilor s-au folosit serul imun și antibiotice. Serul imun, după Kovalenko, dă rezultate pozitive mai ales dacă este aplicat la începutul bolii. Doza activă este de 10—20 ml. O singură injecție este uneori suficientă pentru a aduce vindecarea. Dintre antibiotice s-a folosit streptomicina. Ulendeev și Kolicev (1953) obțin prin streptomicină un procent important de vindecări (85,7%, pentru 566 de miei tratați). Kovalenko recomandă ca tratamentul cu streptomicină să se facă în felul următor : subcutan, de două ori, la interval de 2—3 ore, cîte 5 000 U.I. în 1 ml de apă ; per os, 10 000—15 000 U.I. în 5 ml de apă, de trei ori, la interval de 3—4 ore.

Enterotoxiemia oilor

Enterotoxiemia oilor este o boală cu evoluție rapidă și sfîrșit letal, care apare ca urmare a multiplicării întîi în tractusul digestiv și apoi în organele interne a uneia dintre variantele (B, C sau D) toxigene ale bacilului perfringens. Infecţia se întîlneşte la animale tinere — peste 1 lună — precum şi la animale adulte, însă nu bătrîne; ea apare de obicei la oile în bună sau chiar excelentă stare de întreţinere.

Afecţiuni gastrointestinale, cu evoluţie rapidă şi sfîrşit letal, au început a fi descrise mai în amănunt din 1909. La acea dată, Gilruth în Australia descrie o boală numită de el congestie acută renală (rinichi moale), care apare la mieii pletorici în vîrstă de 4—8 săptămîni şi care se caracteriza clinic printr-o evoluţie rapidă, fără manifestări prodromice, iar anatomo-patologic printr-o ramolire a rinichilor. Autorul nu a putut preciza cauza bolii, dar a constatat că sîngele, îndată după moarte, era steril. Afecţiuni asemănătoare au fost apoi semnalate în Australia şi Noua Zeelandă de diverşi cercetători. În 1930, Mc. Even, în Anglia, descrie o boală a oilor pe care o numeşte *„struck"* şi care apare la oile adulte, de 1—4 ani, ce pasc în regiuni mlăştinoase. Examenul bacteriologic al oilor moarte în aceste condiţii, îi permit lui Mc. Even să izoleze un bacil pe care îl numeşte *Bac. paludis* şi care este o variantă a bacilului perfringens. Bennetts (1932), în Australia, descrie o afecţiune pe care o numeşte enterotoxiemia infecţioasă şi care apare la miei mai mari de 2 luni, dar mai cu seamă la oile adulte. Autorul consideră că enterotoxiemia descrisă de el, este mult apropiată de boala rinichiului moale. El arată că ramolirea rinichilor este o modificare post-mortem, dar care apare numai la animalele moarte din cauza unei infecţii cu bacilul perfringens şi nu la animalele moarte din alte cauze. Astfel, la oile moarte de enterotoxiemie se constată aceeaşi ramolire a ţesutului ca şi în boala rinichiului moale, dacă autopsia se face la cîteva ore după moarte. Bacilul pe care îl izolează din cadavrele oilor moarte de enterotoxiemie este o variantă a bacilului perfringens, numită de autor *Bac. ovitoxicus.* În fine, în Germania, s-a descris o afecţiune cauzată tot de o variantă a *Cl. perfringens* şi care a fost numită de Karman şi Seifried (1924—1926) bradsot, pentru că la autopsia animalelor moarte se găseşte ca şi în bradsot, o inflamaţie sero-gazoasă a mucoasei celui de al patrulea compartiment gastric.

Relaţiile între bolile produse de Cl. perfringens la oaie şi descrise de diverşi autori, sub diverse nume. *Cl. perfringens,* după cum s-a arătat anterior, produce în afară de dizenteria mieilor, care după condiţiile ei de apariţie şi evoluţie constituie o entitate morbidă mai bine definită, o serie de alte afecţiuni întîlnite la tineretul ovin mai mare de 1 lună sau la oile adulte şi descrise, aşa cum s-a arătat mai sus, sub diverse nume: boala rinichiului, struck, enterotoxiemie, bradsot etc. Corespund aceste nume unor entităţi morbide distincte şi care necesită o descriere separată sau sînt diversele forme clinice ale unei singure infecţii ?

Judecînd prin analogie, problema ni se pare simplă şi ea trebuie rezolvată, în sensul de a contopi aceste afecţiuni în una singură, căci procedînd altfel am complica inutil o problemă şi ne-am abate şi de la regulile generale stabilite în această privinţă în patologie. Tuberculoza pulmonară sau intestinală, de exemplu, nu constituie entităţi morbide aparte, ci sînt forme clinice ale uneia şi aceleiaşi boli, tuberculoza. Intervenţia diverselor tipuri de bacili perfringens, în producerea infecţiilor la oile adulte, nu poate constitui un argument împotriva concepţiei uniciste, după cum ea nu constituie nici în cazul tuberculozei. Într-adevăr, anumite forme de tuberculoză la om, de exemplu, pot fi produse fie de tipul uman, fie de tipul bovin, dar intervenţia unui sau altui tip nu a fost invocată ca un argument în favoarea constituirii a două infecţii tuberculoase la om: infecţia cu tipul bovin şi infecţia cu tipul uman.

Dacă această scindare, în două entităţi morbide distincte, nu s-a produs în cazul tuberculozei, unde tipurile se deosebesc net, cu atît mai mult nu este recomandabil să fie făcută în cazul infecţiilor anaerobe cu *Cl. perfringens,* unde deosebirile dintre diversele tipuri de germeni sînt mai puţin evidente. Este logic, şi în conformitate cu regulile generale urmate în crearea entităţilor morbide, ca infecţiile produse de *Cl. perfringens* la oile mai mari de 1 lună să constituie o singură entitate care să fie numită, după Bennetts (1932), enterotoxiemia oilor (enterotoxiemia infecţioasă ovină). Chiar separarea dizenteriei mieilor, ca o entitate morbidă distinctă, în cadrul infecţiilor produse de *Cl. perfringens,* apare ca artificială şi se sprijină pe principii puţin valabile. Dacă am menţinut această separare, este în special pentru motivul că profilaxia ei specifică se face în condiţii deosebite, în raport cu enterotoxiemia oilor.

Importanţă economică. Enterotoxiemia oilor apare sporadic şi procentul pierderilor variază de la o turmă la alta şi de la un an la altul. Oxer (1932) socoteşte că în Australia procentul mediu al mortalităţii este de 6%. În unele turme, procentul este mult mai mare, ca în altele, dar nu pare a depăşi (după Bennetts) cifra de 30%. În Anglia, Mc. Even (1930) constată că cifra mortalităţii în turmele care pasc pe terenuri mlăştinoase poate atinge 45%. Kosarev, în U.R.S.S., găseşte în unele turme un procent şi mai ridicat de 60%. Ghenev, în Bulgaria, consideră că enterotoxiemia este cea mai răspîndită şi mai gravă boală a oilor. În ţara noastră, boala există probabil de mai multă vreme, însă semnalarea ei a fost făcută întîi de Derlogea, în 1936, şi apoi de Bugeac şi Ţaga, în 1949. Derlogea observă boala într-o grupă de batali puşi la îngrăşat, şi care pe lîngă iarba consumată la păşune primeau şi alimente concentrate — mazăre, orz şi porumb — uruite şi amestecate în părţi egale. Boala a apărut numai la aceste animale şi nu la oile care păşteau pe aceeaşi păşune, dar nu primeau concentrate. Procentul de mortalitate a fost ridicat, 11%; în 12 zile au murit 55 de batali din totalul de 500. Bugeac şi Ţaga, cercetează două focare în care de asemenea cifra mortalităţii a fost foarte ridicată. Astfel, într-o turmă compusă din 1 163 de oi au murit în 15 zile 280 de animale, adică 24,0%; într-o altă turmă, formată din 350 de animale, mor în 20 de zile 38, adică 10,8%. Reiese din aceste date că pierderile produse de enterotoxiemie pot fi uneori foarte mari.

Etiologie. Boala este produsă de variantele ovine ale bacilului perfringens. Mc. Even (1930) a izolat, constant tipul C, pe care l-a numit încă şi *Bac. paludis,* dat fiind relaţiile existente între apariţia infecţiei şi terenurile mlăştinoase, autorul considerînd că germenul îşi are originea în asemenea terenuri. Bennetts, în Australia, izolează tipul ovitoxicus. Volkova (1946), Leauskin (1948), în U.R.S.S., au găsit la oile moarte de enterotoxiemie tipul C al bacilului perfringens, dar alţi cercetători, tot în U.R.S.S., cum sînt Kriukov, Antonovici etc. au izolat *Bac. ovitoxicus*.

În U.R.S.S., așa cum reiese din aceste date, în unele turme se izolează tipul C, iar în altele tipul ovitoxicus. În R. P. Bulgaria, Ghenev a izolat tipul C. În țara noastră, s-au izolat de la oile moarte în diverse focare de enterotoxiemie, un număr de nouă tulpini, din care numai una a fost puternic toxigenă și patogenă. Ea dădea o toxină care omora șoarecele uneori chiar în doză de 1/8 000; patogenitatea acestei tulpini pentru cobai și porumbel era accentuată, doza minimă mortală fiind pentru cobai de 0,002 ml, iar pentru porumbel de 0,001 ml de cultură de 24 de ore în bulion (Stamatin și Ungureanu 1954).

Tulpina și-a păstrat în laborator caracterele de patogenitate și toxigenitate. Ea aparține tipului C. Celelalte tulpini, deși patogene pentru cobai în doză de 0,1—0,05 ml, produc în medii lichide cantități foarte reduse de toxină.

Se pare că enterotoxiemia oilor poate fi produsă de toate cele trei tulpini ovine ale bacilului perfringens, adică de tipurile B, C și D (ovitoxicus).

În apariția bolii, pe lîngă virulența și toxicitatea bacilului perfringens, intervin și factori care țin de organism, în special de fiziologia aparatului digestiv. Toți cercetătorii care s-au ocupat de această boală sînt de acord că dezvoltarea bacilului perfringens în tubul digestiv se produce la oile în stare bună de întreținere, la oile lacome, la animalele ale căror funcțiuni digestive sînt deci mult solicitate, oi care pasc pe pășuni bogate de pe terenuri mlăștinoase. Acest fapt a fost remarcat, în primul rînd, de Mc. Even. Dar și în țara noastră, Derlogea, ca și Bugeac și Țaga fac observații similare. Cele două focare de enterotoxemie, cercetate de Buceac și Țaga au apărut în turme ce pășteau pe imașuri bogate în iarbă și pe care se găseau bălți cu apă stătătoare. Tot în țara noastră, într-o turmă cu oi merinos, s-a remarcat apariția bolii la miei de cîteva săptămîni și care se găsesc într-o stare excelentă de întreținere. În general, în această turmă, după datele comunicate de Timariu, se îmbolnăvesc mieii cei mai bine dezvoltați, care sug la oile cele mai bune de lapte. În fața acestor date trebuie să admitem că bacilul perfringens găsește condiții de dezvoltare într-un conținut intestinal al cărui chimism a fost modificat sub influența unei supraalimentații, unei suprasolicitări funcționale. S-ar putea spune că la aceste animale se cere tubului digestiv o funcțiune care depășește posibilitățile sale fiziologice și de aceea apare o stare de dezechilibru de care profită bacilii perfringens patogeni din intenstin. Aceștia foarte probabil totdeauna prezenți în tubul digestiv al oii, mai ales în intestinul gros, nu invadează intestinul subțire, în special ileonul, decît atunci cînd în această porțiune au intervenit modificări care nu numai că nu-l împiedică să se multiplice, dar din contra, îi favorizează multiplicarea.

Infecția experimentală cu culturi sau cu material patologic recoltat din intestinul animalelor moarte de enterotoxiemie nu poate fi reprodusă cu regularitate, cum reiese din datele comunicate de diverși cercetători. Astfel, Bennetts afirmă că administrarea orală a culturilor de *Bac. ovitoxicus* nu duce la instalarea sindromului de enterotoxiemie decît în cazul cînd a fost precedată de o administrare, tot orală, de opium, beladona și bicarbonat de sodiu. Ar reieși, din această cercetare, că pentru a se produce infecția este necesară o micșorare a tonicității tubului digestiv și o neutralizare a secrețiilor sale acide. După Borthwick, chiar numai administrarea de bicarbonat de sodiu este suficientă pentru a înlesni infecția pe cale orală. Alți cercetători reușesc, cu alte culturi, să reproducă infecția și fără o asemenea pregătire. Mc. Even, de exemplu, infectează oile adulte administrîndu-le cultura în capsule de gelatină. La mieii de lapte, administrarea per os a culturii, în amestec cu lapte, poate da rezultate pozitive (Kosarev, Antonovici). Stamatin și col. (1956) au încercat, să infecteze pe cale bucală și rectală, cu tulpini de tip B patogene, mieii în vîrstă de 3—4 săptămîni, dar rezultatele au fost negative. Folosind însă o tulpină extrem de toxigenă autorii au reușit să infecteze o oaie (pe cale bucală) și un miel (pe cale rectală). La oaie s-a administrat cu sonda esofagiană 60 ml de cultură de 18 ore în bulion cu carne. După 4 ore de la administrare, animalul era febril (40,5) și abătut, iar în cursul nopții a murit. La autopsie, s-a constatat un edem gelatinos periesofagian și peritraheal, hemoragii pe mucoasă și submucoasă, lichid sanguinolent în cavitatea toracică și o congestie intensă a intestinului subțire. Din conținutul intestinal și din organe s-a izolat germenul administrat. La miel s-a administrat intrarectal o doză de 40 ml de cultură. Tulburările își fac apariția după 3 zile de la administrare ; în cursul evoluției bolii, animalul se cașectizează și moare după 11 zile de la infecție. La autopsie, ca leziuni principale s-au găsit focare necrotice în rinichi și hemoragii pe foița peritoneală ; culturile din organe și conținutul intestinal au fost pozitive. În concluzie, trebuie să spunem că reproducerea experimentală a infecției nu se poate realiza cu regularitate, cu orice tulpină izolată dintr-un caz de enterotoxiemie, ceea ce dovedește încă o dată caracterul condiționat al infecției. Acest caracter reiese și din experiențele făcute de Stamatin și colaboratorii (1956) citate mai sus. Bacilul perfringens își desfășoară activitatea sa patogenă numai în organismul în care s-au produs tulburări fiziologice grave. Asemenea tulburări pot fi produse de toxinele bacteriilor Gram negative.

Arie geografică. Enterotoxiemia este o boală foarte răspîndită. Astfel, ea a fost semnalată în toate țările cu o ovicultură mai dezvoltată, ca Australia, Anglia, S.U.A., Bulgaria, Turcia, Grecia, Romînia. In U.R.S.S., boala a fost semnalată în diverse regiuni de către diverși cercetători (Volkova, Strümpe, Kriukov și alții).

Frecvența sezonieră. Infecția apare, de regulă, la animalele care se găsesc la pășune. Verile umede, ploioase, care permit dezvoltarea luxuriantă a ierbii, favorizează în mod special apariția bolii. Totuși, infecțiile de grajd nu sînt excluse, și Tor, citat de Kovalenko, a descris cazuri de enterotoxiemie care au apărut la miei ținuți la grajd și hrăniți cu multe alimente concentrate.

Simptome. Boala evoluează supraacut, de obicei, fără o fază prodromică. Bugeac și Țaga remarcă însă că o stare subicterică poate să apară cu 1—2 zile înainte de orice alt semn. Animalele sînt uneori găsite moarte dimineața, fără să fi prezentat în ajun vreo tulburare a stării generale. Alteori, cînd boala apare în cursul zilei, se pot surprinde tulburările care preced moartea și care durează, de altfel, un timp foarte scurt, de la 15—20 de minute pînă la cîteva ore, cel mult 24. Boala debutează printr-o stare de abatere și oboseală, care se manifestă prin aceea că animalul rămîne în urma turmei. Mersul este nesigur și se observă în special o lancinare a trenului posterior. Se constată de asemenea, încercări repetate de a defeca și urina. Materiile fecale sînt diareice și uneori sanguinolente. Glicozuria este considerată de mulți cercetători ca un simptom patognomonic. Respirația este modificată, dispneică. Temperatura este normală sau puțin deasupra normalului, 40—40,5°C. Animalul face eforturi pentru a se ține de turmă, dar deplasarea sa este din ce în ce mai dificilă, titubează și în cele din urmă cade jos, cu capul întins și gura deschisă. Privirea sa este speriată. Uneori behăie și scrîșnește din dinți. O spumă uneori sanguinolentă, poate apărea la nări și gură. Animalul moare, în stare de agitație sau în comă.

Modificări anatomice. Leziunile macro- și microscopice găsite la animalele moarte cu simptome de enterotoxiemie nu sînt caracteristice acestei infecții. Cadavrul prezintă de obicei membrele în extensiune, iar capul este dat mult pe spate. Pe pielea din regiunile depilate se găsesc adeseori pete roșii-vinete. Țesutul conjunctiv subcutan, poate fi pe alocuri edemațiat (edem gelatinos) și sînt injectate vasele în toate regiunile. Musculatura striată poate fi degenerată. În jurul cavităților nazale, în lumenul traheii și bronhiilor se poate găsi o spumă sanguinolentă. Pulmonul poate fi edemațiat, congestionat sau normal. În sacul pericardic este prezent un lichid galben sau roz, care în contact cu aerul se gelifică. Miocardul poate fi degenerat: zonele de degenerescență sînt liniare și de culoare galbenă-cenușie. Histologic, în focarele de degenerescență miocardică, Naletov (citat de Kovalenko) găsește fibre musculare anucleate și lipsite de striații transversale, degenerarea amiloidă și multiplicarea fibroblaștilor. În afară de aceste zone de degenerescență, pe epicard și endocard pot fi prezente hemoragii punctiforme. Ficatul este congestionat, degenerat, de culoare gălbuie. Vezica biliară distinsă printr-o bilă vîscoasă. În primele trei compartimente gastrice se găsesc alimente uneori de aspect normal, alteori împîslite. Cheagul poate fi gol, și pe mucoasa sa se pot găsi hemoragii punctiforme. Leziunile catarale și hemoragice din cheag, se accentuează în duoden și intestinul subțire. În mucoasa și submucoasa intestinului subțire se găsesc infiltrații cu eritrocite. Conținutul intestinal este uneori spumos, alteori hemoragic. În intestinul gros se găsesc materii fecale difluente. Vasele mezenterice sînt injectate.

Rinichii sînt congestionați, și în unele cazuri, au o consistență flască, ceea ce justifică numele dat bolii de „rinichi moale“.

Histologic, Naletov găsește în rinichi îngroșarea capsulei lui Bowmann și comprimarea consecutivă a glomerulei, oxifilia protoplasmei celulelor epiteliale din tubii contorți, carioliza nucleilor acestor celule, intumescența tulbure a epiteliului canalicular, în fine, leziuni pe care autorul le consideră ale unei nefroze, cu necroza consecutivă a epiteliului tubilor contorți și degenerescență parenchimatoasă.

Vezica urinară este de obicei plină cu urină ușor roșiatică.

Splina este normală și numai uneori ușor congestionată. Ganglionii limfatici pot fi hipertrofiaţi, edemaţiaţi şi uneori hemoragici. Vasele din creier şi măduva spinării sînt congestionate.

Diagnosticul, pe teren, se sprijină pe examenul clinic şi anatomo-patologic, precum şi pe datele epizootologice. Atunci cînd într-o turmă care se găseşte pe o păşune bogată şi cu multă umiditate apar sporadic cazuri de boală cu o evoluţie rapidă şi sfîrşit letal, se poate bănui enterotoxiemia Aceste date trebuie să fie completate, în vederea diagnosticului, cu simptomatologia bolii şi cu leziunile găsite la autopsie. Diagnosticul diferenţial trebuie făcut în special faţă de antrax, bradsot, hepatită necrozantă şi dizenteriile nespecifice. Modificările anatomice (vezi descrierea acestor modificări la fiecare boală în parte) ne dau cele mai importante indicaţii privind acest diagnostic diferenţial, dar, în general, aceste indicaţii nu permit totdeauna, şi cu siguranţă să precizăm natura infecţiei. Pentru aceste motive, examenul bacteriologic este imperios necesar. El ne permite să izolăm agentul etiologic, precizînd astfel natura infecţiei.

Examenul bacteriologic se va face din conţinutul intestinal şi din organe. In frotiurile din conţinutul intestinului subţire, în caz de enterotoxiemie, se găsesc aproape exclusiv, numai bacilii de tip perfringens. Chiar prin însămînţări în bulion cu carne şi geloză Veillon nu se pune în evidenţă, uneori, decît bacilul perfringens. Acest germen pare că se dezvoltă singur, excluzînd pe ceilalţi germeni şi chiar flora Gram negativă. Cum de cele mai multe ori, pe lîngă bacilul perfringens, se mai găsesc şi alţi germeni, în general nesporulaţi, se recurge, pentru izolarea bacilului perfringens la încălzirea mediilor îndată după însămînţarea lor (10 minute la 75—80°C).

O probă deosebit de importantă, mai importantă chiar ca izolarea germenului din conţinutul intestinal, o constituie proba toxicităţii acestui conţinut. Într-adevăr, bacilii perfringens, chiar patogeni, se pot izola din conţinutul intestinal al oricărei oi, dar toxina perfringens nu se găseşte decît în conţinutul intestinal al oilor care au murit de enterotoxiemie. Pentru a pune în evidenţă prezenţa toxinei perfringens în conţinutul intestinal, se procedează ca şi în cazul dizenteriei anaerobe a mieilor. Conţinutul intestinal se amestecă cu un volum egal de apă fiziologică, se filtrează prin hîrtie de filtru sau se centrifughează, şi lichidul obţinut (filtrat eventual prin Seitz), ca atare şi în diverse diluţii, se inoculează la şoareci, pe cale intravenoasă, în doză de 0,5 ml. In cazul cînd lichidul este toxic se face proba neutralizării sale cu ser perfringens polivalent (B.C.D.). Amestecul de ser şi conţinutul intestinal este inactiv pentru şoarece atunci cînd în conţinut se găseşte toxina perfringens.

Examenul bacteriologic al organelor interne este totdeauna necesar. In frotiurile din organele interne nu se găsesc bacili, în schimb prin însămînţări din organe şi măduva oaselor se izolează adeseori bacilul perfringens în cultură pură. Pe lîngă însămînţări din conţinutul intestinal, trebuie să se facă totdeauna, în caz de suspiciune de enterotoxiemie, şi însămînţări din organe şi măduva oaselor.

Diagnosticul bacteriologic şi experimental trebuie considerat pozitiv pentru enterotoxiemie, cînd :

1. în conţinutul intestinului subţire (ileon, în special) se găsesc numeroşi bacili perfringens ;

2. conţinutul intestinal este toxic pentru şoarece pe cale intravenoasă;
3. toxicitatea conţinutului intestinului este neutralizată de un ser perfringens polivalent.

Izolarea din conţinutul intestinal sau din organe a unei tulpini toxigene de bacil perfringens confirmă diagnosticul de enterotoxiemie, dar nu trebuie socotită o condiţie obligatorie, deoarece adeseori, tulpinile izolate, deşi omoară cobaiul, nu pun în libertate, în mediile lichide, o cantitate de toxină decelabilă prin inoculări directe la şoarece. Astfel, din opt tulpini de bacili perfringens, izolate de la oi moarte de enterotoxiemie numai una a fost toxigenă, celelalte, deşi omorau cobaiul în doză variind de la 0,05 la 1 ml nu eliberau în mediile lichide o cantitate de toxină decelabilă prin inoculări la şoarece.

Profilaxie. *Măsurile specifice* şi în special vaccinarea s-au dovedit de un real folos în combaterea enterotoxiemiei oilor. Bennets a folosit primul un asemenea vaccin (cultura de 48 ore de perfringens, tip D, formolată 0,5—0,7% şi inactivată 48 de ore la 37°C) şi rezultatele obţinute au fost bune. În U.R.S.S. o serie de cercetători (Kosarev, Volkova, Liauşkin şi alţii) au preparat şi aplicat asemenea vaccinări şi rezultatele au fost similare. Liauşkin (1952), plecînd de la constatarea că enterotoxiemia şi bradsotul pot evolua paralel recomandă un vaccin mixt preparat din tulpini de vibrion septic şi *Cl. perfringens* care ar imuniza oile adulte faţă de ambele infecţii. Batty (1954) pentru imunizarea oilor contra enterotoxiemiei foloseşte un vaccin preparat numai din tulpini de tipul D şi care este precipitat cu alaun. Un asemenea produs poate fi inoculat la miei numai în primele zile după naştere, în doză de 2 ml; el poate fi asociat cu serul imun. Interferenţa dintre vaccin şi ser, în sensul inhibării acţiunii imunizante a vaccinului prin anticorpii serici, pare a fi, după autor, redusă şi este remediată printr-o repetare a vaccinării la vîrsta de 4 săptămîni. Un vaccin preparat tot cu tipul D şi aplicat la miei a fost recomandat şi de Baldwin şi colaboratorii (1948).

Bazaţi pe aceste date, recomandăm ca în cazul cînd a apărut enterotoxiemia într-un efectiv de oi să se procedeze de îndată la vaccinarea întregului efectiv cu culturi de bacili perfringens, inactivate prin formol.

Vaccinul, cel puţin la noi în ţară, este bine să se prepare din mai multe tulpini de bacili perfringens de tip ovin şi anume din tulpini aparţinînd tipurilor B, C şi D. Tulpinile folosite trebuie să fie cît mai patogene pentru cobai şi cît mai toxice pentru şoarece. În scopul obţinerii vaccinului ele se cultivă în bulion cu carne, glucozat (Kitt-Tarozzi), timp de 18—24 de ore, la 37°C; cultura obţinută se formolează 0,5% şi se păstrează la 37°C, timp de 3—4 zile. Vaccinul nu trebuie să conţină germeni cultivabili şi să fie suportat de cobai în doză de 2—3 ml pe cale subcutană.

La oaie, imunizarea se face în două reprize, la interval de 16—20 de zile de fiecare dată injectîndu-se 5 ml de vaccin. Inocularea se face pe cale subcutană, într-o regiune lipsită de lînă, de preferat faţa internă a coapsei. Reacţia postvaccinală este redusă. Oile gestante suportă bine vaccinul.

Măsurile nespecifice au o importanţă deosebită în profilaxia bolii şi în consecinţă, trebuie luate în consideraţie şi aplicate pe teren. Astfel, ţinînd seama de condiţiile de apariţie a bolii, şi în special de rolul pe care îl are natura păşunii, este necesar să se evite, în cazul cînd boala a apărut, păşunile cu iarbă multă şi crudă (otavă) şi animalele să fie păscute pe păşuni mai uscate, cu vegetaţie mai săracă. Eventual, mai ales cînd numărul cazurilor este mare, se recomandă, pentru cîteva zile, hrănirea animalelor în staule, cu fîn.

Kovalenko recomandă, ca în afară de aceste măsuri, să se administreze animalelor săruri purgative (sare Glauber sau de Karlsbad), pentru a mări astfel tonicitatea şi secreţiile tubului digestiv.

Tratament. În cazul cînd evoluţia bolii permite, adică nu este prea rapidă, tratamentul se poate face cu ser antitoxic polivalent sau cu antibiotice. Dintre antibiotice, aureomicina şi teramicina, după Kiser, citat de Szent Iványi, dau rezultate bune. Jordan a observat, de asemenea că administrarea aureomicinei în furaje reduce numărul cazurilor de enterotoxiemie. Penicilina, în condiţii similare, nu a dat rezultate pozitive.

Administrarea sulfului (după Christiansen şi col., 1947) 8—15 g zilnic, o dată cu alimentele, ar reduce pierderile, dar sulful influenţează defavorabil creşterea animalelor, prin scăderea poftei de mîncare. Derlogea (1936) obţine rezultate pozitive în formele benigne de boală, prin administrarea oleului de ricin (60 g) sau sulfatului de sodiu (50 g). Animalele se remit în 5—7 zile.

Enterotoxiemii la alte specii animale

Enterotoxiemia la viţei

La viţei s-a semnalat, de asemenea, o enterotoxiemie cu evoluţie acută, asemănătoare celei descrise la miei (Griner şi Bracken, 1953). Bacilul perfringens izolat aparţine, după autori, tipului C şi nu tipului B.

Ca şi în dizenteria mieilor, bacilul perfringens se găseşte în număr mare în conţinutul intestinal al viţeilor bolnavi şi morţi cu simptome şi leziuni de dizenterie. Conţinutul intestinal este hemoragic; el conţine toxina; eliberat de germeni, produce moartea la şoarecii la care a fost administrat pe cale intraperitoneală sau intravenoasă. Bacilul izolat de la viţei ar reproduce infecţia per os. Enterotoxiemii produse de perfringens s-au semnalat la viţei şi în ţara noastră. Lesbouyries şi Berthelon (1937) au identificat boala şi la cornutele adulte.

Enterotoxiemia la purcei

La purceii în vîrstă de 1—12 zile, Volintir şi Leluţiu (1952), Field şi Gibson (1955), Szent Iványi şi Szabó (1956) au descris de asemenea o enterotoxiemie produsă de *Cl. perfringens*. Agentul infectant pare a fi purtat şi transmis de scroafe. În acest sens pledează atît constatarea că purceii de la unele scroafe se infectează şi mor pînă la unul şi că această situaţie se repetă la mai multe fătări, cît şi faptul că bacilul perfringens a fost izolat din materiile fecale şi uneori chiar din laptele scroafelor ai căror purcei se îmbolnăvesc de dizenterie (Field şi Gibson, 1955, Bahtin, 1956). Necontagiozitatea infecţiei, precum şi reproducerea constantă a infecţiei, prin administrarea orală a culturilor de *Cl. perfringens*, sprijină de asemenea această ipoteză. Reproducerea infecţiei reuşeşte însă numai atunci cînd se folosesc purcei născuţi de cîteva ore. Szent Iványi şi Szabó (1956), experimentînd pe purcei de 6—8 ore, cărora le administrează 1—3 ml de cultură pe cale orală, au reprodus boala naturală sub toate formele ei.

Simptome. Boala naturală se manifestă prin inapetenţă, stare pronunţată de abatere, cianoza pielii, mai ales în regiunea capului şi gîtului. Diareea este prezentă la unele animale, dar este absentă la altele. La animalele la care boala se manifestă şi prin diaree, materiile fecale sînt iniţial lichide, de culoare galbenă-cenuşie, dar mai tîrziu devin sanguinolente, de culoare roşie-vişinie. Moartea survine cîteva ore după apariţia simptomelor. Vindecările sînt o excepţie. Pierderile în efectivele în care a apărut boala sînt foarte mari, pînă la 60% sau chiar mai mult. Astfel, procentul mortalităţii în şase ferme, urmărite de Szent Iványi şi Szabó, a fost respectiv de: 15,9; 35,8; 42,7; 55,2; 60 şi 73,0%.

Leziuni caracteristice se găsesc în intestinul subţire şi constau din hemoragii sau necroze ale mucoasei. În straturile submucoase se pot găsi bule de gaz. Hemoragii se pot găsi şi pe unele seroase — pleură, epicard, endocard, peritoneu, precum şi în stratul cortical al suprarenalei. Ficatul şi splina sînt congestionate (congestie pasivă). Ganglionii limfatici sînt măriţi în volum, edemaţiaţi şi congestionaţi. Uneori pot conţine bule de gaz. Conţinutul intestinal este hemoragic. În cavitatea pleurală este prezent un exudat de culoare roz. Unii autori afirmă că din organele animalelor moarte se izolează, în mod aproape constant *Cl. welchii.* Astfel, în cercetările făcute, în această direcţie, de Bahtin (1956), culturile au fost pozitive în 12% din cazuri, din sînge, în 28% din ficat, în 31% din splină, în 24% din rinichi, în 14% din ganglionii limfatici, în 62% din intestin şi 100% din exudatul pleural. Bacilul se poate găsi în stare pură sau în asociaţie cu alţi germeni: *Proteus vulgaris, Esch. coli,* coci Gram pozitivi. Alţi autori nu au găsit bacilul în organele interne, Szent Iványi şi Szabó (1956), de exemplu, nu au izolat niciodată *Cl. perfringens* sau alt germen din sîngele sau organele purceilor morţi cu simptome şi leziuni de dizenterie. Ei l-au izolat însă constant din conţinutul intestinal sau din peretele intestinului subţire. Bacilul perfringens izolat şi examinat de diverşi cercetători aparţine tipului C. Filtratele culturilor de 24 de ore omoară şoarecele de regulă în doză de 0,05 ml.

Diagnosticul infecţiei se sprijină pe examen clinic, epizootologic, anatomo-patologic şi bacteriologic. Descoperirea toxinei perfringens în conţinutul intestinal al purceilor şi izolarea *Cl. perfringens* constituie probe suficiente pentru a pune diagnosticul de dizenterie anaerobă. Lichidul de centrifugare a conţinutului intestinal al purceilor morţi de dizenterie omoară şoarecele pe cale intravenoasă în doză de 0,2—0,5 ml.

Profilaxie. În prevenirea bolii se obţin rezultate satisfăcătoare prin schimbarea locului şi vaccinarea de două ori a scroafelor gestante cu anacultură, în amestec sau nu cu hidroxid de aluminiu. Szent Iványi şi Szabó, experimentînd un vaccin adsorbit pe hidroxid de aluminiu, constată că în condiţii egale mortalitatea printre purcei a fost de 22% la cei provenind din scroafe vaccinate şi de 43% la cei provenind din scroafe nevaccinate. Serul imun, precum şi antibioticele (sintomicina), administrate purceilor imediat după fătare, previn apariţia bolii.

Penicilina dă, după unii autori, rezultate pozitive în tratamentul purceilor bolnavi, dar după alţii este lipsită de orice valoare curativă. Bahtin nu a obţinut vindecarea purceilor bolnavi nici cu ser imun, nici cu sintomicină.

La mînji a fost semnalată o dizenterie mortală cu perfringens tip B de către Montgomerie şi Rowlands (1937), precum şi de Masson şi Robinson (1938).

La cîini, Bind a descris o enterotoxiemie produsă tot de *Cl. perfringens.*

La pisică, Stamatin şi colaboratorii (lucrare inedită) au identificat o infecţie cu *Cl. perfringens* care mai curînd ar putea fi etichetată ca hepatită necrozantă decît ca o enterotoxiemie. La autopsie, animalul prezenta un catar al mucoasei intestinale şi leziuni grave în ficat. În acest din urmă organ se găseau numeroase focare necrotice circulare, de culoare cenuşie, perfect circumscrise şi avînd un diametru de 2—3 mm. Histologic aceste focare erau reprezentate printr-o necroză de coagulare; nucleii total dispăruţi, iar celulele hepatice se prezentau ca nişte umbre; în jurul focarului necrotic, celulele hepatice aveau nuclei picnotici; de regulă, în centrul focarului, se găsea o masă de bacili, o colonie.

Cl. perfringens a fost izolat în cultură pură din ficat, dar nu din sînge (cord). Tulpina izolată era patogenă pentru porumbel şi cobai — d. l. m. 10^{-2} ml cultură de 24 de ore în bulion — şi serologic (seroprecipitare) aparţinea tipului D.

Serul antiperfringens

Serul imun se prepară, de obicei, pe cai, care sînt injectaţi în acest scop întîi cu anatoxină, apoi, în repetate rînduri, cu toxină. Serul obţinut de la animale astfel tratate are însemnate proprietăţi antitoxice, dar reduse proprietăţi antiinfecţioase (antimicrobiene). Într-adevăr, el neutralizează toxina in vitro, dar in vivo, nu poate preveni infecţia experimentală făcută cu o cultură integrală. O infecţie produsă prin germeni detoxificaţi prin spălări repetate, ar putea fi însă prevenită de serul antiperfringens, după Ştefănescu şi Gorun, 1956.

Titrarea activităţii antitoxice a serului antiperfringens întîmpină dificultăţi din cauza greutăţii obţinerii unei toxine stabile. Dat fiind variabilitatea complecşilor toxici conţinuţi de toxina lichidă sau precipitată, titrul antitoxic al unui ser poate varia de la o toxină la alta. Se obţin astfel rezultate foarte variabile, fie titrînd serul în raport cu o unitate toxică (20 d.l.m. de şoarece pe cale intravenoasă), fie folosind o doză test de toxină, determinată în raport cu un ser etalon.

Titrarea serului antiperfringens, în raport cu o unitate toxică, se face la Institutul de patologie şi igienă animală, după protocolul pe care îl dăm în cele ce urmează.

Prepararea toxinei lichide

a) *Mediu de cultură:* bulion de carne de bou cu ficat glucozat 1‰, și pH=7,6.

b) *Însămînțarea mediului:* flacoane de 250 g, conținînd 220—230 ml bulion, regenerat și cald se însămînțează cu 1 ml cultură de 24 ore în bulion cu ficat.

c) *Incubația* se face la temperatura de 37°C timp de 18 ore.

d) *Controlul purității* se face microscopic, pe frotiuri colorate după metoda Gram.

e) *Separarea toxinei.* Toxina se separă de corpii bacterieni, centrifugînd cultura 1 oră la 3 500—4 000 de turații pe minut. Lichidul supernatant se decantează și se păstrează la temperatura de 40°C. El reprezintă toxina lichidă.

Titrarea toxinei. Stabilirea dozei minime mortale se face pe șoareci albi, în greutate de 16—20 g. Toxina de cercetat se diluează în ser fiziologic, în proporție de 1/20, 1/40, 1/80, 1/100, 1/200 etc. și se injectează în volum de 0,5 ml, pe cale intravenoasă (vena marginală a cozii), la cîte 2—3 șoareci pentru fiecare diluție. Se consideră o doză mortală (d.l.m.) ultima diluție de toxină capabilă să omoare toți șoarecii în 24 de ore.

Tabelul 64

Titrarea toxinei perfringens S.

Diluția	Volumul inoculat	Calea de inoculare	Numărul șoarecilor	Rezultat
1/100	0,5	Intravenos	1 1	+ 8 minute + 7 minute
1/200	0,5	Intravenos	1 1	+ 6 ore + 24 minute
1/800	0,5	Intravenos	1 1	Rezistă

Toxina titrată în exemplul dat conține 400 d.l.m. pe 1 ml. Unitatea toxică fiind egală cu 20 d.l.m., titrul toxinei este de 20 U.T. 1 ml.

Avînd la dispoziție o toxină titrată se poate trece la *titrarea serului.* În acest scop se amestecă volumul care conține 100 d.l.m. de toxină, conform titrării făcute cu cel mult 24 de ore înainte, cu cantități descrescînde de ser și se aduce la un volum final de 2,5 ml prin adăugare de ser fiziologic.

Amestecul se pune la 37°C, timp de 1 oră, pentru neutralizare și apoi se inoculează cîte 3—4 șoareci, din fiecare diluție. În același timp sînt inoculați cîte 2 șoareci martor, respectiv cu cîte 1 și 20 d.l.m. (toxină diluată și păstrată la 37°C în aceleași condiții ca și toxina amestecată cu ser).

Tabelul 65

Titrarea serului antiperfringens 855 față de toxina S

Amestec			Volum final	Volum inoculat	Timp de contact la 37°C	Calea de inoculat	Numărul șoarecilor	Rezultat
Ser	Toxină ml	Ser fiziologic ml	ml	ml	ore			
1 ml dil. 1/10	0,25, adică 100 d. l.m.	1,25	2,5	0,5	1	Intravenos	1 1 1	Rezistă " "
1 ml dil. 1/20	0,25	1,25	2,5	0,5	1	Intravenos	1 1 1	" " "
1 ml dil. 1/40	0,25	1,25	2,5	0,5	1	Intravenos	1 1 1	+ 52 minute +1 oră 5 minute +1 oră 13 minute
Martor	0,25	2,25	2,5	0,5	1	Intravenos	1 1	+ 2 minute + 2 minute
Martor	0,25	2,25	2,5	0,5	1	Intravenos	1 1	+ 6 ore + 24 minute

Rezultatul. Serul, în exemplul dat, conține 100 U.A.T. pe 1 ml, deoarece 1 ml de ser neutralizează 100 U. T.

Calcul 0,05 ml (1 ml din diluție de 1/20) ser neutralizează 5 U.T. (100 d.l.m.)
5 ml ser neutralizează 500 U.T.
1 ml ser neutralizează 100 U.T.

Titrarea în raport cu o doză test dă rezultate mai constante; totuși variații importante se constată și aici, pentru același ser, de la o toxină la alta. Doza test se stabilește în raport cu o unitate antitoxică a unui ser etalon; ea este cantitatea de toxină precipitată care în amesec cu o unitate antitoxică, după 1 oră de contact la 37°C este injectată la șoarece pe cale intravenoasă, și omoară aproximativ jumătate din șoarecii inoculați.

În afară de metoda titrării in vivo s-au recomandat și metode de titrare in vitro. Glenny (1937), de exemplu, determină valoarea unui ser prin capacitatea sa de a neutraliza hemolizinele perfringens, Nagler (1944) prin capacitatea serului de a inhiba tulburarea serului uman etc. O serie de autori, printre care și Sinderov și colaboratorii (1950) în Bulgaria, modifică metoda lui Nagler, înlocuind serul uman prin lecitovitelină. Proba lecitovitelinei, în urma unei serii de cercetări, a fost adoptată în multe biofabrici în scopul titrării toxinei perfringens α (alfa) şi serului antiperfringens. Metoda se poate aplica pentru tipurile de perfringens care conţin lecitinaza (toxina α) cum este tipul A.

Tehnica probei lecitovitelinice

Prepararea lecitovitelinei. Un gălbenuş de ou proaspăt se omogenizează cît mai bine într-un volum de 250 ml de apă fiziologică. Amestecul se trece printr-un filtru de talc şi după o păstrare, la gheţar, timp de 1—2 săptămîni se întrebuinţează în reacţie, după o prealabilă filtrare prin hîrtia de filtru.

Titrarea toxinei. In vitro, toxina se titrează faţă de un ser standard. Astfel, 1/10 unităţi antitoxice, conţinute într-un volum de 0,2 ml, se amestecă cu diferite diluţii de toxină luate în volum de 0,3 ml. Serul şi toxina se amestecă prin răsturnarea tubului şi totul se lasă 45 de minute la temperatura de 37°C. Apoi se adaugă cîte 0,2 ml de lecitovitelină, se omogenizează şi amestecul se lasă 1 oră la 37°C şi 16—18 ore la temperatura camerei. Titrul toxic e dat de tubul în care se produce o tulburare a conţinutului, tubul în care deci serul nu a mai putut inhiba activitatea lecitinazei alfa.

Tabelul 66

Rezultatul titrării unor toxine perfringens

Denumirea toxinei	Doze de toxină uscate mg														
	1,2	1,25	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5
Nr. 1.	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Nr. 2	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nr. 3	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Titrarea serului. Se prepară diferite diluţii de ser imun, din fiecare diluţie luîndu-se un volum de 0,2 ml care se amestecă cu toxina (doza de experienţă 1,8 mg, de exemplu, în cazul toxinei nr. 1) luată în volum de 0,3 ml.

După omogenizarea conţinutului, tuburile sînt lăsate 45 de minute la 37°C şi apoi se adaugă cîte 0,2 ml soluţie de lecitovitelină; se omogenizează din nou şi rezultatul reacţiei se notează după 1 oră de incubare la 37°C şi 16—18 ore la temperatura camerei. În tuburile în care toxina nu a fost complet neutralizată de ser, lecitinaza alfa a pus în libertate grăsimile din lecitovitelină, care se ridică la suprafaţa tubului sub formă de inel. În tuburile în care lecitinaza a fost neutralizată lichidul se menţine limpede. Titrul antitoxic al serului este dat de tubul care conţine cea mai mică cantitate de ser şi în care lichidul a rămas limpede.

BIBLIOGRAFIE

ADAMS şi col. — Factorii care intervin în producţia de toxină la Cl. welchii. *J. exp. Med.*, 1947, 85, p. 171.

BAHTIN G. A. — Dizenteria purceilor nou-născuţi. *Veterinaria*, 1956, nr. 6, p. 30.

BALDWIN M. E. şi col. — Folosirea în contra enterotoxiemiei ovine a unui vaccin preparat cu Cl. perfringens de tip D. *Am. J. Vet. Res.*, 1948, 9, p. 296.

BATTY I. şi col. — Imunizarea activă a mieilor nou născuţi contra bolii „rinichiul moale". *Vet. Rec.*, 1954, 66/18, p. 249.

BENNETTS W. H. — Enterotoxiemia infecţioasă „rinichiul moale" şi alte boli ale oilor înrudite cu ea. *The Austr. Vet. Journal*, 1932, t. 88.

BENNETTS W. H. — O modificare post-mortem în enterotoxiemia infecţioasă experimentală. *Council Scientifie Industrial Research, Australia*, 1932, Bul. nr. 35.

BENNETTS W. H. — Profilaxia enterotoxiemiei oilor. *The Austr. Vet. Journ.* 1936, oct.

BONCIU C. şi col. — Consideraţiuni asupra unui caz de bacteriemie cu B. perfringens provocată în urma unei injecţii medicamentoase. *Rev. Şt. med.*, 1941, 6—7, p. 423.

BOSWORTH I. T. — J. comp. Path., 1943, 53, p. 245.

BROCARD H. — Producţia la cobai a flegmoanelor gazoase mortale prin injecţia simultană de adrenalină şi culturi de B. perfringens avirulent. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, 134, p. 567.

BUGEAC T. şi ŢAGA M. — Enterotoxiemia oilor în R.P.R. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1949, I, p. 91.

CARRÉ H. — Asupra enteritei mieilor provocată prin supraalimentaţie. *Réc. Méd. Vét.*, 1936.

DALLING T. — Dizenteria mieilor. *The Veterinary Record*, 1928, p. 841.

DALLING T. — Infecţia oilor cu anaerobi. *The Veterinary Record*, 1936, decembrie.

DEBONERA — Examinarea mieilor bolnavi de dizenterie. *The Veterinary Record*, 1934, t. 524.

DERLOGEA H. — Enterotoxiemia oilor. *Buletinul Asociaţiei generale a medicilor veterinari din Romînia*, 1936, 48, p. 356.

ELFORD. J. W. şi col. — Fenomenul de bacteriofagie la anaerobi (Welchia perfringens). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84, p. 119.

FIELD H. I. şi GIBSON E. A. — *Vet. Record*, 1955, 67, p. 31.

GRINER L. A. şi col. — Cl. perfringens (tip C) în enterite hemoragice la vaci. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1953, 122, p. 99.

GUILLAUMIE M. — Determinarea titrului antitoxic la serurile antiperfringens A. Prepararea, titrarea şi proprietăţile toxinelor corespunzătoare. *Ann. Inst. Pasteur*, 1941, 66, p. 204.

GÜRTÜRK S. — Diferenţierea tipurilor de Cl. welchii prin proba inhibării hemaglutinării. *Z. f. Hyg. Infektionskr.*, 1952, 133, p. 770.

HANGANU C. — Caracterele tulpinilor de Cl. welchii izolate de la animale. *Teză la Facultatea de medicină veterinară*, Bucureşti, 1949.

HOWARD A. — Studii comparative privind rasele biochimice şi rasele serologice de B. perfringens. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 99, p. 133 şi p. 135.

KARMANN P. şi SEIFRIED — *Z. f. Infektionskrankh. der Haustiere*, 1925, 28, p. 304 şi 1926, 29.

KEMENY L. şi col. — Titrarea serului cailor producători de ser antiperfringens prin metoda lecitovitelinică. *Acta Vet. Hung.*, 1953, 3, p. 123.

KOVALENKO I. R. — Infecţiile anaerobe ale animalelor domestice. *Selhozghiz*, Moscova, 1954.

KRIUKOV K. — Bradsotul şi enterotoxiemia anaerobă; rinichiul moale. *Veterinaria*. 1950, nr. 5.

KATICH R. şi DIMITRIJEWITCH V. — Rezultatele cercetărilor privind dobîndirea imunităţii contra enterotoxiemiei mieilor provenind din oi vaccinate şi nevaccinate. *Réc. Méd. Vét.*, 1954, 30, p. 487.

KRUEGER A. şi FABRE M. — Titrarea serurilor antiperfringens. *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, 68, p. 513.

LIAUŞKIN A. V. — Incercarea combaterii enterotoxiemiei infecţioase şi a bradsotului oilor cu vaccinul formolat şi precipitat cu alaun în gospodăriile de creştere a oilor. *Lucrările Institutului de control ştiinţific al preparatelor veterinare, Selhozghiz*, t. III, 1952.

MC. EVEN — *J. comp. Path. a. Ther.*, 1926, 39, p. 253 şi 1930, 43, p. 1.

MAC FARLANE G. R. şi col. — Hemoliza şi opacifierea serului şi lecitovitelinei prin toxina alfa a Cl. welchii. *J. path. Bact.*, 1941, 52, p. 99.

NAGLER O. — Z f. Immunität sf. 1939, 91, p. 457.

OXER T. D. — „Rinichiul moale" sau enterotoxiemia infecţioasă acută a mieilor sugari produsă de B. ovitoxicus (Bennetts). *Bul. 38. Council Scientific Industrial Research*, Australia, 1932.

OAKLEY L. C. — Factori acţionînd asupra activităţii toxinei alfa a Cl. welchii. *J. Path. Bact.*, 1941, 53, p. 335.

OAKLEY L. C. — Bacteriologia enteritei necrotice. Toxina B. enterotoxicus (B. perfringens de tip F). *Zbl. f. Bakt.*, O, 1949, 153, p. 312.

OAKLEY L. C. şi WARRACK H. — *J. Hyg. Camb.*, 1953, 51, p. 102.

OLARU A. şi col. — Contribuţii la studiul condiţiilor care determină o toxigeneză mai ridicată şi mai constantă a B. perfringens. *Arch. rom. epid. microbiol.*, 1956, 1, p. 284.

PERSICINEK M. N. şi CERNISOVA S. P. — Dinamica formării toxinei în culturile de B. perfringens, tip. B. *Microbiologhicinii Jurnal*, 1953, 15, nr. 2.

PETRONAITIS I. P. — Influenţa mediului extern asupra îmbolnăvirii mieilor de dizenterie. *Veterinaria*, 1952, nr. 2.

POLIKOVSKI M. D. şi FOMINA A. I. — Durata imunităţii în dizenteria mieilor. *Sovetskaia veterinaria*, 1941, nr. 1.

POLIKOVSKI M. D. — Dizenteria anaerobă a mieilor. *Selhozghiz*, Moscova, 1952.

QUERADA A. şi CONTINI A. — Contribuţii la studiul gastro-enterotoxiemiei oilor. *Atti Soc. Italiana Sc. Veterinare*, 1952, 6, p. 677.

SAISSAC R. şi REYNAUD M. — Extracţia toxinei din W. agni, var. Wildsoni (Perfringens D) din corpi microbieni. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, 80, p. 434.

SIMONDS J. — Studii asupra B. welchii cu referinţe speciale asupra clasificării şi relaţiile cu diareea. *Monografie a Inst. Rockfeller de cercetări medicale*, 1915, 5.

SINDEROV L. şi HAGIDIMOVA D. — Titrarea serului antiperfringens prin proba lecitovitelinică, in vitro. *Lucrările Inst. Sănătăţii publice* (Sofia), 1950, 4, p. 19.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi ANDREI M. — Diagnosticul de laborator al dizenteriei mieilor. *Probleme de microbiologie veterinară*, 1954, nr. 3, p. 25.

STAMATIN N. şi UNGUREANU C. — Studiul unei tulpini de B. perfringens izolată de la oaie. *Probleme de microbiologie veterinară*, 1954, nr. 3, p. 41.

STAMATIN N. şi col. — Reproducerea sindromului enterotoxiemiei de tip perfringens la oaie, cîine şi iepure. *Pr. Pat. Gen. şi Anat. Pat.*, 1956, III, p. 5.

STAMATIN A., UNGUREANU C. şi GRECEANU AL. — Anaerobiozele oilor. *Monografia Inst. Pat. Ig. animală*, 1956.

ŞTEFĂNESCU şi GORUN — *Arch. Rom. Epidemiol. Microbiologie*, 1956, 1, p. 273.

SZENT-IVÁNYI TAMÁS — Bolile produse de Cl. perfringens la animale, cu consideraţii speciale asupra enterotoxiemiei infecţioase a oilor, *Magyar Állatorv. Lapja*, 1955, nr. 4, p. 127.

SZENT IVÁNYI TH. şi SZABÓ ST. — Enterita infecţioasă necrotică a purceilor. *Acta Vet. Acad. Scient. Hungaricae*, 1956, 6, p. 217.

TURNER W. A. şi RODWEL W. A. — *Austr. J. exp. Biol. a. med. Sci.*, 1943, 21, p. 17 şi 27.

UNGUREANU C., GRECEANU AL. şi ANDREI M — Vaccino-prevenţia în dizenteria anaerobă a mieilor. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1956, 6, p. 205.

VOLINTIR V. şi LELUŢIU C. — O enzootie de dizenterie cu anaerobi la purcei. *Probleme zootehnice şi veterinare*, 1952, nr. 1, p. 65.

WALBUM L., şi REYMAN C. — Producţia toxinelor la Cl. welchii. *J. Path. Bact.*, 1933, 36, p. 469.

WEINBERG M. şi COMBIESCU N. — Leziuni hemoragice produse de B. perfringens. *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, 45, pag. 547.

ZASEDETELEVA G. S. — Studiul proprietăţilor biologice ale microbilor din grupul B. perfringens izolaţi de la oi. *Culegere de lucrări ale Inst. U. de Med. Vet.* Experienţe executate în 1945, Moscova, 1949, p. 83.

ZEISSLER J. şi RASSFELD-STERNBERG L. — Bacteriologia enteritei necrotice. *Zbl. f. Bakt. o.*, 1949, 153, p. 304

ZEISSLER J. şi RASSFELD-STERNBERG — Enterită necrotică datorită lui Cl. welchii. *Brit. Med. J.*, 1949, i, p. 267.

Clostridium oedematiens (Weinberg şi Séguin) Bergey et. al. 1923

Sinonim: *Bacillus oedematis maligni* II (Novy, 1894) Weinberg şi Séguin, 1915.

Novy a izolat în 1894, de la trei cobai injectaţi cu produse chimice şi care au prezentat după injecţie edeme locale, un anaerob patogen pentru animalele de experienţă şi diferit prin multe din caracterele sale de anaerobii cunoscuţi la acea epocă. Anaerobul a fost numit de autor *Bac. oedematis maligni II*, spre a-l deosebi de anaerobul izolat şi studiat de Koch care era socotit *Bac. oedematis maligni I*. Tulpini asemănătoare celei izolate de Novy au fost găsite şi de alţi cercetători, la alte specii animale. Weinberg şi Séguin, în 1915, îl găsesc în gangrenele gazoase umane, Albiston la oile moarte de hepatită necrozantă în Australia, Zeissler și Rassfeld la oile moarte cu simptome de bradsot în Germania etc. Aceste diverse tulpini sînt cunoscute sub diverse nume, ca *Bac. novy, Bac. oedematiens, Bac. gigas,* bacilul osteomielitei bivolilor etc. și considerate ca specii distincte. Individualitatea acestor germeni nu este totdeauna bine precizată, dar toți au relații mai mult sau mai puțin strînse cu *Bac. oedematiens,* descoperit și complet studiat de Weinberg și Séguin. Tulpina izolată de Novy, în 1894, este considerată identică cu tulpinile de *oedematiens* găsite de Weinberg și Séguin la om.

Caractere morfologice și rezistență. În culturile tinere ca și în organe, bacilul se prezintă ca un bastonaș, de cele mai multe ori drept și numai rareori încurbat, avînd atunci forma de C sau S. Dimensiunile sale sînt importante fiind unul din cei mai mari anaerobi ; lungimea variază de la 5 la 10 microni, iar lățimea de la 0,8 la 1,5 microni. Bacilii pot fi grupați în lanțuri, frecvent scurte, rareori lungi, de 15—20 elemente. În mediile acide se pot întîlni forme filamentoase ; asemenea formații nu se găsesc în edeme sau pe suprafața ficatului. În bulionul glucozat apar frecvent forme granulate.

Sporii sînt situați, în mod obișnuit, subterminal, și împreună cu forma respectivă în interiorul căreia se găsesc frecvent, dau imaginea unei rachete. Sporii sînt ovali, apar în culturi după o incubație de 24 de ore și sînt numeroși în culturile de 4—6 zile. Bacilii sporulează în edemele și serozitățile animalelor infectate. Sporii, în culturi mixte cu bacterii de putrefacție rezistă 3 ore, la 100°C, iar în cultură pură 10—60 de minute la aceeași temperatură. Rezistența sporilor de *oedematiens* variază în raport cu mediul de cultură.

Bacilul nu capsulează.

Mobil ; cilii sînt numeroși, 20 sau mai mulți, lungi și ondulați. Oxigenul paralizează mobilitatea cililor ; bacilii sînt mobili în tuburi capilare închise la ambele capete.

Gram pozitiv ; unii bacili din culturile vechi nu mai rețin colorația Gram ; alții prezintă o serie de granule colorate în violet, restul bacilului fiind colorat în roșu.

Ecologie. Bacilul se găsește în pămînt, de unde pătrunde în tubul digestiv al animalelor, ca și în plăgile omului sau animalelor. A fost izolat din cazuri de gangrenă gazoasă de la om și de la animale (cal) precum și din ficatul normal de oaie și din intestine uscate de oaie.

Caractere culturale. Anaerob strict ; se dezvoltă la o presiune de 3 mm, dar nu la presiuni mai mari de 15 mm mercur. Formele vegetative nu se multiplică în prezența oxigenului, dar îi tolerează, pînă la 10 ore sau mai mult, prezența.

Izolarea bacilului din materialul patologic se face cu oarecare dificultate. Rezultate bune se obțin folosind fie medii cu ser, fie medii proaspete.

Temperatura optimă 37°C ; crește la 22°C, în gelatină glucozată.

Bacilul tulbură intens, cîteva ore după însămînțare, mediile lichide (bulionul glucozat, bulionul de ficat etc.) ; după o incubație de aproximativ 20 de ore, bacilii sedimentează, constituind un depozit alb-gri ca un nor care se micșorează mult după cîteva zile, din cauza transformării baci-

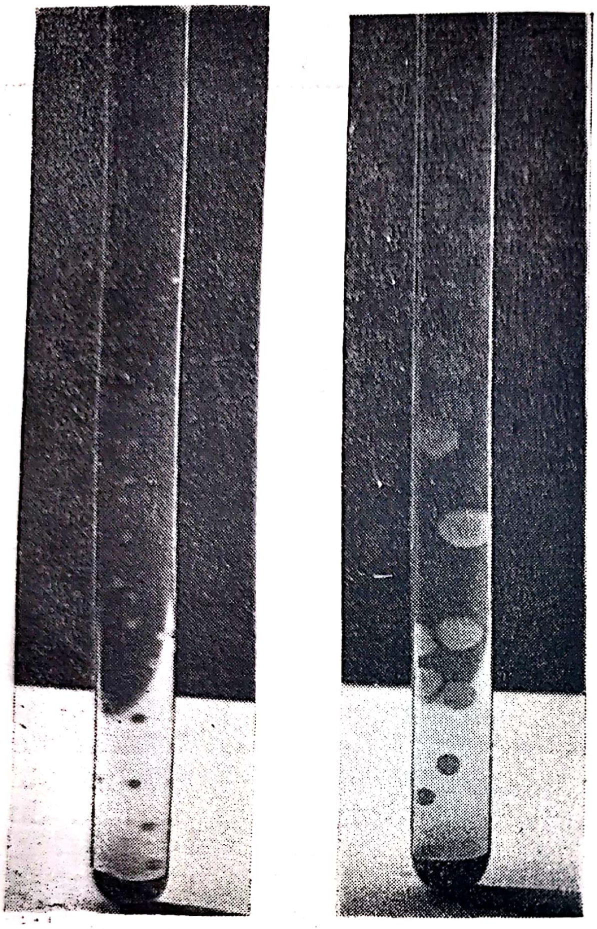


Fig. 135 — Clostridium oedematiens
Aspecte culturale în geloza Veillon

lilor în spori și degenerării formelor vegetative nesporulate. Mediul devine, în urma acestui proces, limpede, și depozitul este abia perceptibil.

Culturile de *oedematiens* degajă un miros fetid, puternic.

Bacilul produce gaze în mediile cu zaharuri fermentescibile.

Crește în lapte, pe care îl coagulează, coagulul format se sfărîmă, dar nu se lichefiază ; el ocupă jumătate din volumul total de mediu.

Nu se multiplică în apă peptonată, dar se dezvoltă în apă peptonată cu glucoză, producînd aminoacizi și gaze.

În geloză profundă, coloniile apar după o incubație de 1—4 zile și au forme variate ; coloniile tinere au un centru rotund sau lenticular, opac, înconjurat parțial sau complet de arborizații fine. Centrul coloniei devine prin învechirea culturilor transparent, datorită fenomenelor de sporulare.

Pe agarul cu sînge, coloniile sînt constituite dintr-o împletitură densă la centru, mai puțin densă la periferie această din urmă zonă este formată din filamente care ies paralel din centrul opac și se întorc, în aceeași formație, spre centru. În jurul coloniei există o zonă de hemoliză transparentă de culoare galbenă-aurie ; aceasta este de cîteva ori mai mare ca diametrul coloniei.

Proprietăți biochimice. Fermentează constant glucoza și levuloza și inconstant maltoza, zaharoza, galactoza, lactoza și glicerina. Rezultatele obținute, în această privință, de diferiți cercetători, cu diverse tulpini, sînt foarte variate.

Bacilul lichefiază gelatina glucozată 2%, dar nu pe cea glucozată numai 2‰. Nu lichefiază serul coagulat și nu atacă decît excepțional albușul de ou.

Nu înnegrește mediul cu creier, dar produce în straturile profunde ale mediului o ușoară înroșire.

Nu produce în mod obișnuit nici indol, nici hidrogen sulfurat.

Structură antigenică. Iepurii inoculați intravenos cu culturi formolate dau seruri care aglutinează bacilii homologi la un titru de 1/25 000—1/100 000. Serul este specific ; el aglutinează toate tulpinile de *oedematiens* și este inactiv față de alți anaerobi.

PATOGENITATEA ŞI ELEMENTELE EI

Bacilul este toxic şi virulent ; procesul morbid este dominant, ca şi la alţi anaerobi din această grupă, de toxicitatea germenului. Toxina ca şi cultura integrală produc la animalele sensibile, ca şi la om, edeme gelatinoase masive, nehemoragice sau puţin hemoragice.

Toxina ; proprietăţi chimice şi biologice. Toxina se găseşte în culturile vechi de 1—6 zile din medii lichide, concentraţia cea mai mare fiind atinsă după o incubaţie de 4—5 zile la 37°C ; se separă de germeni prin filtrare prin Chamberland L.2. Pierderile în cursul filtrării sînt importante. Toxina este termolabilă ; se distruge la temperatura de 50°C în 30 de minute ; ea este sensibilă faţă de acizi şi alcool. Se conservă cîteva luni la rece şi la întuneric. Sulfatul de amoniu — 600—700 g pentru 1 l de toxină lichidă — precipită toxina în proporţie de 26,2—87,5% ; dintr-un litru de toxină se obţin în medie, 6 g de substanţă uscată ; sub această formă, activitatea patogenă a toxinei rămîne neschimbată 4—5 ani. Toxina provoacă procese morbide letale, în doze convenabile, la animalele sensibile. Este dotată cu proprietăţi gelatinolitice.

Filtratul culturilor de *Cl. oedematiens* toxigen conţine mai mulţi principii toxici, cu proprietăţi biologice distincte. Astfel, fracţia alfa este răspunzătoare de efectul letal, fracţiile beta şi gama sînt lecitinaze hemolitice similare, dar nu identice cu toxina alfa a bacilului perfringens, fracţia delta este o hemolizină oxigenolabilă, fracţia zeta tot o hemolizină, iar epsilon o lipază care dă o zonă perlată pe agarul cu sînge. Aceste diverse fracţii nu sînt prezente la toate tulpinile şi pe baza modului de repartizare la diverse tulpini (Oakley şi col. 1947) şi ţinînd seama şi de alte proprietăţi (origine, dimensiuni, fermentarea glicerinei etc. Scott, 1934) s-au creat trei tipuri de bacili oedematiens. Tipul A conţine fracţiunile alfa, gama, delta şi epsilon, tipul B, fracţiile alfa, beta şi zeta şi, în fine, tipul C nu produce nici una din aceste fracţii. După Scott şi colaboratorii (1934) tipul A este bacilul izolat de Weinberg şi Séguin (1915) din gangrena gazoasă umană tipul B este identic cu *B. gigas*, iar tipul C cu bacilul osteomielitei bivolilor. Aceşti din urmă doi germeni, noi i-am descris ca specii aparte. În filtratele culturilor bacilului oedematiens se găsesc şi urme de hialuronidază.

Patogenitatea toxinei. Cobaiul este sensibil faţă de toxina bacilului oedematiens. Inoculată pe cale intravenoasă, în doze mari, 1—3 ml de filtrat, ea produce o intoxicaţie gravă, mortală. Animalele astfel injectate sînt triste, tremură, respiră greu şi înainte de moarte sughiţă şi au convulsii ; temperatura sub normală ; moartea este datorită, de obicei, opririi respiraţiei şi survine în cîteva ore de la injecţie.

Cobaii injectaţi tot pe cale intravenoasă, cu doze mici de toxină 1/100—1/400, prezintă primele simptome după 24—48 de ore, cu 10—15 minute înainte de moarte, şi ele constau din dispnee şi frisoane. Animalele injectate intravenos, cu doze încă şi mai mici, prezintă simptome de intoxicaţie, dar se vindecă. Cobaii morţi în urma intoxicaţiei cu toxină oedematiens prezintă, la autopsie, plăci necrotice în ficat, rinichi, splină şi congestia mucoasei intestinale şi a glandei suprarenale.

Filtratul injectat pe cale subcutană şi în doze mortale — 1/10—1/100 ml. — produce un edem progresiv gelatinos, nehemolitic. Moartea survine în 2—3 zile. Dozele submortale de toxină produc un edem local, care după 2—3 zile începe să se resoarbă.

Şoarecele pare mai sensibil decît cobaiul: pe cale subcutană, doze variind de la 1/400 la 1/3 000 îl omoară în 24—48 de ore, animalul prezentînd la autopsie o infiltraţie cu lichide la locul de inoculare. Pe cale intraperitoneală toxina pare ceva mai activă ca pe cale subcutană. Toxina uscată omoară şoarecele de 17—20 g în doze de 0,0045 g pe cale subcutană şi de 0,015 pe cale intravenoasă.

Şobolanul alb este sensibil la toxina bacilului oedematiens. Doza mortală variază în raport cu calea de administrare. O toxină cercetată de Ungureanu omoară şobolanul adult, de exemplu, pe cale subcutană, în doză de 1/10 ml şi pe cale intraperitoneală în doză de 1/1 000 ml. Dozele mari — 1 ml din această toxină — omoară animalul în mai puţin de 24 de ore, cele mici, vecine cu doza minimă mortală, îl omoară în 1—2 zile. La autopsia animalelor injectate pe cale subcutană se găseşte un edem gelatinos local, care este cu atît mai întins cu cît maladia a durat mai mult timp. Şobolanii injectaţi pe cale intraperitoneală prezintă extravazări seroase în cavităţile peritoneală şi toracită.

Iepurele injectat pe cale subcutană cu doze mari de toxină, 0,1—1 ml, moare în 24—48 de ore, prezentînd la autopsie un edem local gelatinos. Pe cale intravenoasă, dozele mari, 0,5 ml sau mai mult, îl omoară în 1—3 ore, cu simptome de asfixie. La autopsie se constată un puternic edem pulmonar.

Oaia. Cantitatea de 5 ml de toxină, injectată pe cale subcutană, omoară oaia în 2—3 zile, prin oprirea respiraţiei; local ca şi în alte regiuni se produc edeme gelatinoase, masive.

Calul este sensibil; inoculările subcutane produc edeme locale vindecabile, cînd cantitatea injectată nu a fost prea mare; reacţia locală este însoţită de febră, dispnee etc.

Infecţia experimentală. Cultura integrală este patogenă pentru şoarece, şobolan, cobai, iepure, cal şi oaie. Gradul de patogenitate variază de la o tulpină la alta. Tulpinile izolate din cazurile de gangrenă umană sau animală sînt constant patogene.

Cobaiul inoculat pe cale intravenoasă cu 0,25 ml de cultură de 24 de ore moare în 6—18 ore, în hipotermie şi prin oprirea respiraţiei, cu simptome şi leziuni asemănătoare celor produse de toxină. Dozele mici de cultură — 0,1—0,04 ml — inoculate pe cale intramusculară (de obicei la unul din membrele posterioare) omoară cobaiul în 24—72 de ore. Evoluţia şi leziunile produse variază de la o tulpină la alta, recunoscîndu-se însă două tipuri principale de infecţie, provocate de două feluri de tulpini şi anume: tulpini toxice şi tulpini virulente.

Tulpinile toxice produc un edem local care progresează de la piciorul posterior pe faţa abdominală pînă la stern. La autopsie se constată o tumefacţie a regiunii injectate; ea este palidă, cianotică, edemul local este gelatinos, asemănător celui produs de bacteridia cărbunoasă. Muşchii locali congestionați, infiltrați cu lichide și bule de gaze, dar nu sînt necrozați; leziunea nu exală miros putrid. Germenii sînt rari în leziunea locală, în serozitate, și sînt absenți în lichidul cavității abdominale.

Tulpinile virulente produc altfel de leziuni. La exterior tumefacția are același aspect ca și în cazul infecției cu tulpini toxice, însă pielea care o acoperă este de culoare brună-roșie, iar la palpare crepitațiile sînt bine perceptibile. Edemul este gelatinos, însă de culoare hemoragică. Mușchii nu sînt necrozați, dar sînt hiperemiați, de culoare roșie-violacee, infiltrați cu lichide și gaze. Bacilii sînt numeroși în leziunile, ca și în serozitatea peritoneală. Hemoculturile sînt pozitive puțin timp înainte de moarte.

Pe cale subcutană se produc aceleași leziuni ca și pe cale intramusculară.

Șobolanul este tot așa de sensibil ca și cobaiul și tulpinile toxice și virulente îi produc leziuni asemănătoare cu cele descrise la cobai.

Șoarecele moare în 48 de ore, în urma inoculării pe cale intramusculară sau subcutană a unei doze variind de la 0,1 la 0,01 ml.

Iepurele este mai sensibil decît cobaiul. Doza minimă mortală este într-adevăr, pentru unele tulpini, de 0,01 ml de cultură de 24 ore în bulion, injectată pe cale subcutană. Asemenea doze omoară animalul în 2—3 zile. Dozele mari, 1—2 ml, îl ucid într-un timp mai scurt, 24 de ore sau mai puțin. Culturile de 24 ore administrate pe cale intravenoasă, în doză de 2 ml, omoară iepurele în cîteva ore. La autopsia animalelor injectate pe cale subcutană, se constată un edem local masiv, gelatinos și puțin hemoragic. Mușchii din jurul locului de injecție sînt infiltrați cu lichide și gaze și au culoarea cărnii fierte. În cavitatea pleurală se poate găsi un lichid citrin sau roșietic, lipsit de bacili.

Examenul histologic pune în evidență leziuni pulmonare care constau dintr-un edem alveolar, infiltrații masive cu elemente albe și blocajul capilarelor alveolare și al venelor, prin elemente albe (polinucleare). În ficat se constată congestie și infiltrație cu elemente albe. În rinichi se găsesc numeroase elemente albe în glomeruli și în spațiile intertubulare.

Oaia este receptivă și poate fi infectată prin inocularea culturii pe cale parenterală. Pe cale bucală culturile de *Bac. oedematiens* par a fi inactive.

Doza minimă mortală variază, pe cale parenterală, de la 0,5 la 5 ml cultură de 24 ore în bulion cu carne. Injecția subcutanā este urmată de constituirea unei tumefacții locale care progresează pînă la moartea animalului. Aceasta survine 1—4 zile după infecție. La autopsie, se constată, local, un edem gelatinos, care conține un lichid galben citrin sau ușor roz. Edemul cuprinde regiuni întinse. Astfel, în cazul cînd injecția s-a făcut la unul din membrele posterioare, edemul cuprinde întregul membru și se poate întinde și pe fața laterală respectivă a corpului pînă în dreptul sternului. Musculatura adiacentă e degenerată. În cavitățile toracică și pericardică, se găsește, de regulă, o cantitate mare de lichid citrin sau ușor roz, care coagulează în contact cu aerul. Pulmonii sînt normali. Mușchiul cardiac este degenerat. Suprafața auriculelor poate fi hemoragică. Ficatul e degenerat, cu pete întinse, de culoare gălbuie-murdară. Acest aspect pătat se observă și pe suprafața de secțiune a ficatului. Masa intestinală are vasele injectate. Splina și rinichii sînt normali.

Leziunii microscopice. Ficatul este congestionat și prezintă numeroase zone de liză a celulelor hepatice (necroză de coagulare). Această topire a celulelor poate cuprinde mai mulți lobuli hepatici sau e limitată la celulele din jurul venei centrolobulare. În zonele de necroză nu se găsesc elemente albe, însă sînt prezenți numeroși bacili izolați sau constituind filamente.

Pulmonul este edemațiat, iar capilarele pereților alveolari conțin numeroase elemente albe.

Rinichii sînt infiltrați cu elemente albe.

Bacilii se găsesc și se pot izola din edemul local, din lichidele extravazate, din cavitatea toracică și sacul pericardic și, mai ales, din leziunile hepatice.

Porcul și *boul* sînt receptivi și pot fi infectați experimental.

Calul a putut fi infectat mortal cu 0,25 ml cultură integrală ; animalul a murit în 4 zile cu un edem masiv la locul de inoculare.

Găina este puțin sensibilă, dar tulpinile foarte toxice o pot omorî.

Infecția naturală

Bacilul oedematiens e unul din principalii agenți ai gangrenelor gazoase traumatice umane, el putînd fi izolat din 9—48% de asemenea cazuri. Infecțiile cu oedematiens, la om ca și la cal, sînt cele mai grave. El este întîlnit de asemenea în diverse afecțiuni la animale. A fost izolat astfel, din gangrene de la bou, porc și cal. Infecțiile cu acest germen la cal, au o evoluție rapidă, și de regulă mortală.

În patologia ovină, bacilul are un rol important, el fiind considerat ca agent al hepatitei necrozante. De asemenea, a fost izolat din plăgile capului de la berbeci și este considerat ca germenul care complică plăgile ce se produc la berbeci în urma bătăilor dintre ei. Umflarea capului, ca o consecință a infecției acestor plăgi cu bacilul oedematiens, apare mai ales la animalele tinere (Bull, 1935).

Hepatita necrozantă

Generalități. *Cl. oedematiens* produce la oaie o infecție cunoscută sub numele de hepatită necrozantă. E foarte probabil că și alți anaerobi, în special *Cl. welchii,* pot produce o infecție cu o evoluție asemănătoare, dar se pare că în cazul infecției cu *Cl. oedematiens,* sediul primar, punctul de plecare al bolii este ficatul, în timp ce în cazul infecției cu *Cl. welchii,* acest punct este intestinul și de aceea poate e just a socoti hepatita necrozantă ca o infecție produsă de *Cl. oedematiens* și tratată ca o entitate morbidă aparte.

Hepatita necrozantă este o anaerobioză care se dezvoltă în afara existenței unei leziuni tegumentare vizibile, și se caracterizează printr-o evoluție rapidă și mortală, la autopsie constatîndu-se, ca leziune patognomonică, zone necrotice, nodulare, în ficat.

Boala a fost întîlnită și descrisă întîi în Australia și a fost numită braxy (numele englez al bradsotului danez), fiind socotită identică cu infecţia produsă de vibrionul septic în ţările nordice din Europa. In 1927, Albiston, conducîndu-se după leziunile găsite la autopsie, propune termenul de hepatită infecţioasă necrozantă. Turner şi Davesne (1927) cercetează tulpina izolată de Albiston dintr-un caz de hepatită necrozantă şi găsesc că ea este identică cu *Cl. oedematiens*, serul antioedematiens neutralizînd, într-adevăr, toxina tulpinei lui Albiston. Aceste cercetări introduc în patologia ovină o nouă entitate morbidă care se diferenţiază de bradsotul produs de vibrionul septic. Bradsotul german descris de Miessner şi col. (1931) trebuie considerat tot ca o hepatită necrozantă, el fiind produs de *Cl. oedematiens* (*B. gigas*, după Zeissler şi Rassfeld) care este însă o varietate a speciei *Bac. oedematiens*.

Cernăianu şi Mihăilescu (1935), în ţara noastră, descriu boala, izolînd de asemeni din organele animalelor moarte, *Cl. oedematiens*.

Importanţa economică. Hepatita necrozantă nu figurează în statisticile oficiale şi nu se pot deci apracia consecinţele ei economice. După datele publicate de Cernăianu şi Mihăilescu, pierderile pot fi uneori foarte mari. Autorii afirmă într-adevăr, că în turme cu un efectiv pînă la 200 oi, pot muri pînă la 35—40 animale. Dodd (citat de Turner şi Davesne) afirmă că mortalitatea poate atinge 20—25%.

Patogenie. *Cl. oedematiens* se poate găsi în tubul digestiv al oilor sănătoase ca un epifit. Pătrunderea sa în ţesutul hepatic s-ar face, după unii autori (Miessner, Carré şi col., Cernăianu şi Mihăilescu) prin leziunile create de trematozi (*Fascicola hepatica, Dicrocoelium lanceolatum*) în pereţii canalelor biliare. Această ipoteză se bazează în special, pe constatarea făcută de autorii citaţi, că infecţia bacteriană apare la animalele bolnave de fascioloză sau dicroceloză. Argumentul nu este însă suficient de convingător şi intervenţia trematozilor în apariţia hepatitei necrozante, o socotim ca încă nedemonstrată, şi în orice caz, nu se poate stabili totdeauna o legătură între infecţia cu *Cl. oedematiens* şi trematodoza hepatică. In acest sens, amintim, în primul rînd, faptul că Albiston a diagnosticat infecţia bacteriană la animale neparazitate, iar, în al doilea rînd, constatarea că cel puţin în ţara noastră, nu se observă o relaţie directă între trematodoza hepatică şi hepatita necrozantă, în sensul că trematodoza este mult mai frecventă decît hepatita. Şi, în fine, dacă rolul speciei *F. hepatica* ar mai fi explicabil, cel al speciei *D. lanceolatum*, este foarte puţin probabil, dat fiind că acest din urmă parazit, spre deosebire de primul, se hrăneşte cu bilă şi nu cu sînge, şi nu lezează, în consecinţă, pereţii canalelor biliare.

E foarte probabil că infecţia cu *Cl. oedematiens* se face pe cale intestinală la animalele care prezintă tulburări în funcţia aparatului digestiv. Această ipoteză se sprijină pe constatarea că hepatita apare la oile cele mai grase dintr-o turmă.

E de presupus că bacilii ajung în ficat prin sîngele venos, şi că din venele centro-lobulare, ei trec în ţesutul hepatic, unde se multiplică, şi prin exofermenţii lor produc liza celulelor hepatice.

Simptome. Boala evoluează fulgerător, şi animalele sînt de obicei, găsite moarte dimineaţa. In turmele în care boala a luat un caracter enzootic se pot descoperi şi în timpul zilei animale bolnave. Acestea rămîn în urma turmei, mai ales cînd turma e supusă unui mers mai rapid. Oile rămase în urma turmei, gonite puţin, se culcă în decubit sternal. Ele prezintă o respiraţie accelerată şi o stare de apatie totală. Oaia bolnavă nu se ridică atunci cînd vine cineva şi nu reacţionează cînd e examinată. Temperatura nu depăşeşte cu mult limitele superioare normale. Moartea survine repede, 1—2 ore, fără a fi precedată de nici un fel de agitaţie. Animalul poate fi găsit mort în poziţie sternală. Mortalitatea e de 100%.

Modificări anatomice. La autopsie, leziunile hepatice atrag în primul rînd atenţia. Ficatul e mărit şi congestionat, vezica biliară destinsă. Pe suprafaţa ficatului, ca şi pe suprafaţa de secţiune, se găsesc focare necrotice, în număr variabil şi de mărimi diferite, de la cîţiva milimetri pînă la cîţiva centimetri. Canaliculele biliare sînt turgescente, proeminînd pe suprafaţa organului. În cavităţile seroase, se găsesc cantităţi mari de lichid, de culoare galben-citrină sau uşor roşie, care coagulează în contact cu aerul. Pe suprafaţa cordului, sînt uneori prezente rare hemoragii. Tubul digestiv nu prezintă de obicei nici o leziune. Mucoasa caietei poate fi uneori uşor congestionată, dar nu prezintă niciodată leziunile (necroză, edem) care se întîlnesc în adevăratul bradsot.

Splina şi rinichii sînt uşor congestionaţi.

Histologic, în ficat, pe lîngă leziuni congestive, se găsesc leziunile necrotice, care prezintă o zonă centrală de colicvaţie, mărigintă, după Turner, de o primă coroană formată din bacili şi o a doua, din elemente albe. Bacilii sînt prezenţi şi în zona de colicvaţie.

Diagnosticul clinic e dificil, iar cel anatomo-patologic nu poate da indicaţii decît în cazul cînd se autopsiază cadavre proaspete. Examenul bacteriologic e absolut necesar şi se pune diagnosticul de hepatită necrozantă în cazul cînd se izolează *Cl. oedematiens*. Pentru diagnosticul bacteriologic, se vor trimite la laborator organe proaspete (ficat, splină, os nedeschis), în condiţii care să împiedice putrefacţia organelor în timpul transportului.

Profilaxie. Măsurile nespecifice, ca izolarea animalelor bolnave, schimbarea locului de păşunat, dau unele rezultate. În general, pentru prevenirea infecţiei, se recurge însă la mijloacele specifice, şi anume la vaccinarea cu anaculturi de *Cl. oedematiens,* a turmelor infectate sau ameninţate de infecţie. Turner, Miessner, Cernăianu şi Mihăilescu şi alţii, au aplicat, cu bune rezultate, un asemenea vaccin. Amestecarea anaculturilor cu alaun, ar mări, după Oxer şi col., valoarea lor imunizantă.

Serul antioedematiens

Toxina speciei *Cl. oedematiens* are o însemnată valoare antigenică şi inoculată la iepure, oaie sau cal, provoacă apariţia unor cantităţi ridicate de anticorpi neutralizanţi. Weinberg şi Prévot, constată că serul unui cal hiperimunizat cu toxina oedematiens, conţine 3 000—6 500 unităţi antitoxice, o unitate antitoxică fiind cantitatea minimă de ser care neutralizează 100 d. l. m. de toxină.

Serul imun e activ faţă de *Cl. oedematiens* de origine umană sau animală, dar e ineficace faţă de toxinele altor anaerobi. La temperatura camerei, el pierde în 30 luni, 35—50% din conținutul său în antitoxine. In vitro, serul imun neutralizează și activitatea gelatinolitică a toxinei, fără a se constata vreo relație între activitatea antiproteolitică și conținutul său în antitoxine.

Titrarea serului antioedematiens. Unii cercetători au titrat serul imun antioedematiens, determinînd cantitatea minimă de ser, capabilă să neutralizeze 100 d.l.m. toxină, pe cale subcutană, la șoarece; această cantitate reprezintă o unitate antitoxică. Cercetările ulterioare au arătat că prin acest procedeu se obțin valori variabile în raport cu toxina folosită; același ser poate conține, de exemplu, în titrajul cu o toxină 10 000 unități, iar cu altă toxină 20 000 unități. Metoda, date fiind aceste rezultate, a trebuit să fie abandonată.

S-au obținut rezultate mult mai constante folosind doza test de toxină; doza test este cantitatea de toxină, care în amestec cu o unitate antitoxică de ser etalon, omoară aproximativ o jumătate din șoarecii inoculați. Ea conține 100—230 d.l.m. pe cale subcutană. O dată doza test stabilită se procedează la titrarea serului imun inoculînd la șoarece pe cale subcutană sau intravenoasă (rezultatele sînt sensibil aceleași), un amestec de o doză test, cu cantități variabile din serul de titrat, după un contact de o oră la 37°C. Pentru fiecare doză de ser, se injectează 8 șoareci de 17—20 g jumătate sub piele, jumătate intravenos. Observația animalelor injectate durează 3 zile.

Oakley și col. (1947) recomandă ca serurile să fie titrate pe baza conținutului lor în antitoxine alfa, beta, gama, delta, epsilon și zeta.

BIBLIOGRAFIE

BULL P. — Edem malign seros, negazos, al capului la berbeci. *J. comp. Path. a Therap.*, 1935, martie.

CERNAIANU C. și MIHAILESCU M. — Hepatita infecțioasă necrozantă a oilor cu B. oedematiens. Imunizarea activă prin anaculturi. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 118, p. 1585.

GUILLAUMIE M. — Prepararea și proprietățile serului antioedematiens. *Ann. Inst. Pasteur,* 1943, 69, p. 146.

OAKLEY L. C. și col. — Toxinele Cl. oedematiens. *J. gen. Microbiology,* 1947, 1, p. 91.

SCOTT J. P. și col. — Boala edemului gazos. *Al XII-lea Congres Int. de Med. Vet.,* New-York, 1934, vol. 1, p. 168.

TUNNICLIFF E. A. și MARSH H. — Toxoidul precipitat cu alaun este un mijloc de combatere a hepatitei necrozante a oilor. *J. Vet. Res.*, 1939, 47, nr. 2.

TURNER A. — Hepatita necrozantă (Braxy, Black diseases), a oii australiene. Rolul patogen a B. oedematiens (Weinberg-Séguin); reproducerea infecției: Vaccinarea prin anaculturi. *Ann. Inst. Pasteur,* 1928, 42, p. 211.

TURNER A. și DAVESNE — Rolul bacilului oedematiens în etiologia hepatitei infecțioase necrozante (Braxy) a oii australiene. *Ann. Inst. Pasteur,* 1927, 41, p. 1078.

TURNER A. — Hepatita necrotică infecțioasă la berbeci. *Réc. Méd. Vét.,* 1931, 112, nr. 4.

Clostridium gigas Prévot, 1938

Sinonim: *Bacillus gigas* Zeissler şi Rassfeld, 1929.

Bacilul a fost izolat şi studiat întîi de Zeissler şi Rassfeld care au constatat că el are o serie de caractere comune cu *Cl. oedematiens,* printre care notăm: modul de dezvoltare pe agar cu sînge, sensibilitatea faţă de oxigen şi aspectul leziunilor provocate la animalele de experienţă. *Cl. gigas,* spre deosebire de *Cl. oedematiens,* este însă mai voluminos; lungimea sa variază de la 4 la 20 microni, iar lăţimea de la 1,2 la 2 microni. Bacilul este mobil, avînd cili dispuşi peritrich. Sporii sînt situaţi central sau subterminal, uneori mai înguşti alteori mai laţi decît formele vegetative; rezistă 5—20 de minute la fierbere. Bacilii sînt Gram pozitivi în culturile tinere, dar în cele vechi ei pierd, în mare parte, capacitatea de a reţine coloraţia Gram.

Bacilul gigas se dezvoltă slab sau de loc în mediile lichide (bulion de ficat); aceleaşi medii îl cultivă foarte bine, dacă conţin ser normal în proporţie de 30%. Se dezvoltă în laptele cu porţiuni de ficat, dar nu în laptele simplu. Innegreşte foarte puţin sau de loc mediul cu creier. Fermentează constant glucoza şi levuloza şi inconstant galactoza. Inactiv faţă de glicerină, manită, dulcită, izodulcită, zaharoză, lactoză, maltoză, inulină şi salicină.

Bacilul secretă în mediile lichide o toxină care se distruge la 70° C.

Germenul a fost izolat din cazurile de bradsot apărute la oi, în Germania. Boala, descrisă sub acest nume în Germania, se aseamănă sau este chiar identică cu hepatita necrozantă descrisă şi la noi în ţară.

Bac. gigas este identic cu agentul osteomielitei bivolilor (Kranefeld, şi Djaenoedin, 1933, 1936), boală întîlnită în Indiile olandeze. Acesta din urmă, spre deosebire de *Bac. gigas,* este apatogen pentru animalele de experienţă (cobai, iepure, cîine, capră, bou şi bivol). Scott şi col. (1934) admit că bacilul gigas este tipul B şi agentul osteomielitei bovine tipul C al speciei *Cl. oedematiens.*

BIBLIOGRAFIE

KRANEFELD C. şi DJAENOEDIN — *R. Ned. ind Bl. Diergeneesk* 1933, 45 p. 80, 1936, 48 p. 255.

ZEISSLER J. şi RASSFELD L. — *Arch. Wiss. prakt. Tierheilk* 1929, 59, p. 419.

Clostridium hemolyticus bovis

Germenul a fost izolat (Vawter şi Records, 1926, 1931) dintr-o afecţiune supraacută, observată frecvent la bovidee şi mai rar la ovidee şi suidee. Boala este întîlnită în diverse regiuni ale Americii de sud şi nord şi se caracterizează prin febră şi hemoglobinurie. Moartea survine în 24—36 de ore. Hemoculturile, practicate puţin mai înainte de moarte sau îndată după moarte, permit izolarea unui anaerob care se prezintă ca un bastonaş lung de 2—9, lat de 0,8—3,5 microni ; el este izolat sau grupat în lanţuri scurte. Ciliat, dar foarte puţin mobil sau chiar lipsit de mobilitate în tuburile capilare închise. Tulpinile de curînd izolate sporulează energic ; prin pasagii repetate pe medii de cultură tulpinile pot deveni asporogene. Gram labil.

Bacilul produce în mediile lichide o cultură abundentă şi iniţial uniform răspîndită ; prin învechire se constituie un depozit mucos, abundent, dar mediul nu se clarifică. În geloză profundă bacilul formează colonii lenticulare care prezintă uneori una sau două protuberanţe.

În mediile cu sînge produce o hemoliză puternică.

Fermentează glucoza, levuloza şi glicerina, cu producţie de acid şi gaz.

Lichefiază gelatina, coagulează laptele, dar nu înnegreşte mediile cu creier.

Toate tulpinile de *Bac. hemolyticus* izolate aparţin, după unii autori, aceluiaşi tip serologic şi nu au relaţii serologice cu alţi anaerobi. Se afirmă, din contra, de alţi autori, că toxina bacilului hemolitic are fracţii antigenice comune cu perfringens, gigas şi oedematiens. Serul antihemolyticus neutralizează, după aceşti din urmă autori, parţial toxina celor trei anaerobi. Serurile antitoxice preparate cu anaerobii de mai sus neutralizează, într-o măsură mai mică ca toxină proprie, toxina bacilului hemolitic.

Bac. hemolyticus secretă în medii lichide o toxină, similară cu lecitinaza hemolitică a bacilului oedematiens. Ea se găseşte în culturi în primele 30 de ore după însămînţare ; după acest interval, activitatea toxică a culturilor scade. Filtratul, în doză de 1,5—2 ml, omoară, pe cale intravenoasă, iepurele în 8 ore. El este puternic hemolizant, in vitro, faţă de globulele roşii de capră, cal, cîine, şoarece, vacă şi oaie. Toxina uscată, obţinută prin precipitarea filtratului cu sulfat de amoniu la saturaţie, este mortală pentru cobai (în doză de 0,00125 g), oaie, şoarece, iepure şi porumbel.

Culturile tinere şi deci toxice sînt patogene, pe cale subcutană sau intramusculară, pentru cobai, iepure şi bovidee. La locul de inoculare se produce un edem hemoragic şi o moderată necroză de coagulare a muşchilor. Producţia de gaz este slabă sau absentă. Concomitent cu leziunea locală apare o distrucţie rapidă a globulelor roşii, urmată de hemoglobinurie.

Infecţia naturală nu a putut fi reprodusă administrînd la bovidee cantităţi importante de cultură pe cale bucală, dar a putut fi reprodusă prin inocularea subcutană, a culturilor toxigene.

Clostridium histolyticum (Weinberg şi Séguin) Bergey et al, 1922

Sinonim : *Bacillus histolyticus* Weinberg şi Séguin, 1916

Bacilul a fost izolat de Weinberg şi Séguin, în anii 1915—1916, din cazurile de gangrenă gazoasă umană. El a fost găsit apoi, de altfel destul de rar (Kahn şi col., 1924, 1925), în materiile fecale umane, în pămînt, (Peterson şi Hall, 1923), în apendicitele gangrenoase umane etc.

Caractere morfologice. În serozităţile patologice ca şi în culturile tinere, bacilul se prezintă izolat sau sub formă diplobacilară. Lungimea celulelor variază de la 3 la 5 microni, iar lăţimea de la 0,5 la 0,8 microni. Forme de degenerscenţă, fuziforme sau rotunde, se întîlnesc mai frecvent în culturile vechi.

Bacilul este ciliat; cilii sînt lungi, numeroşi şi dispuşi peritrich. Mobilitatea germenilor în culturile vechi este foarte redusă; germenii tulpinilor de laborator, care au suferit numeroase treceri pe medii de cultură, sînt practic imobili.

Sporii sînt situaţi frecvent subterminal şi mai rar central; ei deformează forma vegetativă. Sînt întîlniţi în culturi şi mai rar în serozităţile patologice. Sînt foarte numeroşi în culturile vechi de cîteva zile. Bacilul sporulează în organism dacă infecţia nu omoară într-un timp scurt animalul.

Caractere culturale. Bacilul este anaerob; creşte pe agar cu sînge la presiuni cuprinse între 3 şi 15 mm de mercur. Culturile pe agar cu sînge nu sînt omorîte printr-un contact de 10 ore cu aerul atmosferic. Pe mediile lichide, bulion cu sau fără glucoză, dezvoltarea este capricioasă; unele tulpini se dezvoltă în aerobioză pe acest mediu, altele dau culturi slabe sau refuză să se multiplice chiar în anaerobioză. Bacilii, în mediu lichid, pot fi iniţial uniform răspîndiţi, sau se aglutinează în flocoane de la început. Lichidul se limpezeşte şi cultura se depune, în orice caz, în culturile vechi de cîteva zile; depozitul, în culturile vechi este pulverulent. În geloză profundă, coloniile sînt uniforme, de culoare galbenă-gri şi măsoară 1—2 mm. La microscop colonia prezintă un centru opac, înconjurat de o coroană de filament. Coloniile se clarifică prin învechire.

Pe agar cu sînge, coloniile sînt mici, rotunde, înfundate în mediu, incolore sau colorate în gri, fără miros. Se dezvoltă încet; coloniile bine dezvoltate sînt înconjurate de o zonă de hemoliză.

Proprietăţi biochimice. Bacilul este considerat ca lipsit de proprietăţi zaharolitice. Se afirmă totuşi că el ar produce acizi, dar nu gaze, pe medii cu glucoză şi uneori maltoză. Nu fermentează alte zaharuri. Bacilul histolitic este în schimb, un energic proteolitic. Astfel, el lichefiază constant gelatina; toate tulpinile topesc, mai repede sau mai încet, serul coagulat. Digeră, *in vitro*, muşchiul crud sau încălzit la 60°, dar este inactiv faţă de muşchiul fiert sau denaturat prin acizi. În bulion cu carne crudă produce întîi o desfacere a fibrelor musculare şi apoi digestia lor. O acţiune asemănătoare are şi asupra ţesutului conjunctiv; bacilul peptonizează — lichefiază — în mediile de cultură porţiuni din tendonul lui Achile de la cal. Liza ţesutului muscular sau conjunctiv se face în condiţii optime, la 37°C; temperaturile scăzute, de 4—5°C, sau ridicate, mai mari de 45°C, împiedică acest proces. Activitatea proteolitică se datoreşte unui ferment care se apropie prin modul său de acţiune de tripsina pancreatică; ca şi aceasta din urmă, fermentul bacilar este activ în mediu alcalin sau neutru. El desface albuminele coagulate pînă la termenul de aminoacizi.

Bacilul produce, în apă peptonată, aminoacizi, dar nu amoniac, iar în bulion, cu triturat de cord de cal, acid acetic, acid butiric, acizi aminaţi, amoniac şi urme de hidrogen sulfurat.

Bacilul înnegrește mediul cu creier.

Patogenitate. Bacilul histolitic, inoculat pe cale subcutană sau intramusculară, produce o digestie a țesuturilor din jurul porții de intrare. Procesul local este însoțit de simptome generale. Efectul local, cît și cel general, se datoresc secrețiilor toxice și enzimelor proteolitice. Germenii debarasați de secrețiile lor, prin spălare, sînt inofensivi.

Toxina se găsește în culturile tinere, de 18—24 de ore, ale tulpinilor toxigene; ea se alterează repede în culturile păstrate la termostat, dar se conservă 10—18 zile în culturile ținute la gheţar, după o incubaţie de 18—24 de ore la 37°C. Se distruge complet prin încălzire la 100°C. Este precipitată de sulfatul de amoniu, în proporții variind de la 37 la 90%. Factorii toxici sînt în parte reținuți de filtrele Chamberland.

Filtratele culturilor sînt proteolitice; ele lichefiază gelatina, digeră fragmente musculare crude de cobai, topesc serul coagulat sau albușul de ou coagulat, comportîndu-se ca și culturile integrale; spre deosebire însă de acestea din urmă, filtratele nu digeră serul sanguin sau albușul de ou necoagulat prin căldură și nu produc aminoacizi decît din gelatină. Ele au o însemnată capacitate colagenazică (Jennison, 1947).

Proba activității colagenazice se face astfel: 10 ml de filtrat, cultură de 24 de ore, se amestecă cu 300 mg tendon de bou triturat fin; amestecul este incubat, cu sau fără toluol, la 37°C, timp de 24, 48, 72 și 96 de ore, apoi este trecut prin hîrtie de filtru. Se cîntărește colagenul nesolubilizat și se determină astfel proporția în care el a fost solubilizat de fermenții histolitici.

Oakley și Warrack (1950) identifică în filtratele bacilului histolitic 3 fracții toxice și anume: toxina alfa care este letală și necrotică, toxina beta este o colagenază și toxina gama o proteinază activată de cisteină, care atacă colagenul alterat, dar nu pe cel nativ. Fracțiile beta și gama sînt gelatinolitice.

Filtratele culturilor au și proprietăți fibrinolitice. S-a încercat chiar să se folosească această acțiune pentru topirea cheagurilor de fibrină in vivo, dar s-a constatat că acest lucru nu este realizabil, din cauza antidiastazelor conținute de umorile organismului. Astfel, serul normal de cîine inhibă activitatea fibrinolitică a filtratelor obținute din culturile bacilului histolitic (Carlen, 1939). De asemenea, s-a încercat să se lizeze în vivo tumori cu filtratele sau culturile bacilului histolitic, constatîndu-se că la șoarecii purtători de sarcoame transplantabile se obține, în urma injecției bacililor histolitici, o prelungire a vieții cu aproximativ 20 de zile în raport cu martorii, neinfectați.

In vivo, filtratele produc cînd sînt injectate intramuscular, dezintegrarea și liza țesuturilor conjunctiv și muscular (Nasta, 1922, Combiescu, 1925). Disocierea elementelor constituente ale țesuturilor este provocată de lichidele edemului care apare scurt timp după injecție; aceste lichide pătrund întîi printre fibrile și apoi în fibrile, care în acest stadiu, pe secțiune transversală, au aspect vacuolar. Un proces asemănător de disociere se petrece și în pereții vaselor sanguine, care se rup, și sîngele extravazat dă un caracter hemoragic leziunii (Nasta, 1922, Combiescu, 1925).

Leziunea locală este însoțită de leziuni (focare hemoragice, depozite fibrinoase, edeme, liză celulară), localizate în ficat, pulmon, splină, rinichi etc. Necroze focale se pot găsi, la unele animale, în ficat și glandele suprarenale (Pasternack, 1940).

Pe cale intravenoasă, în doză de 1—2 ml, toxina omoară iepurele în cîteva minute; injectată pe cale intradermică ea produce necroza pielii; pe cale intracorneană produce un ulcer necrotic. Leziuni corneene asemănătoare sînt produse și de toxina *Bac. oedematiens*, dar nu de toxinele *Bac. perfringens*, vibrionul septic și *Bac. chauvoei*. Pe cale intramusculară, dozele mari de toxină produc la cobai și iepure edem local, necroza pielii și o mioliză întinsă, care merge adesea pînă la denudarea osului.

Șoarecele este foarte sensibil, mai ales pe cale intravenoasă; toxina obținută prin centrifugarea culturii omoară pe această cale șoarecele, într-un timp variabil, în raport cu doza. Astfel, după Ungurenu și Greceanu (1955), dozele de 1/10—1/100 ml omoară șoarecii în 30—60 de minute. Dozele mai mici de 1/200—1/1 000 ml îi omoară în 10—16 ore. Diluțiile mai mici de 1/1 000 sînt, după autori, inactive. Pe cale subcutană, toxina nu produce la șoareci și șobolani decît leziuni minime, similare cu cele provocate la cobai și iepure.

Doza minimă mortală de toxină, precipitată prin sulfat de amoniu, pentru șoarece și pe cale intravenoasă, este în medie de 0,03 mg. Toxina bacilului histolitic este neutralizată atît de serul antihistolitic, cît și de serul antivibrion septic, dar nu de serurile antioedematiens sau antiperfringens. Amestecul de toxină și ser antivibrion septic sau antihistolitic, după 1 oră de contact la 37°C, este inactiv pentru șoarece. Ungureanu și Greceanu, examinînd două tulpini de bacil histolitic, constată că toxina uneia din ele era total neutralizată de serul antivibrion septic, iar a celeilalte numai parțial, adică șoarecii inoculați cu amestec de toxină + ser antivibrion septic nu rezistau definitiv; ei mureau, dar mai tîrziu decît martorii inoculați numai cu toxină. Toxina lichidă conține hemolizine active față de globulele roșii: în doze variind de la 0,002 la 0,004 ml ea hemolizează 0,1 ml de globule roșii de oaie, suspensie 5%. Globulele roșii de om, cal, bou, cîine, iepure și cobai sînt la fel sensibile față de hemotoxina histolitică. In agar cu sînge de om, bacilul produce hemoliză, dar nu o produce în agar cu sînge de cal sau oaie.

Infecția experimentală. Tulpinile izolate din gangrenele gazoase, umane, ca și cele izolate de la animale sau din intestin de la om sînt patogene pentru animalele de experiență. Conservate în laborator, tulpinile pierd parțial sau total puterea lor patogenă.

La *cobai* culturile tulpinilor active produc leziuni mortale numai în doze relativ mari, iar în doze mai mici leziuni locale vindecabile. Doza de 1—2 ml, inoculată pe cale intravenoasă, omoară cobaiul în cîteva minute; animalul prezintă, îndată după inoculare crize spasmodice și moare în comă. Dozele mai mici, 0,25—0,5 ml pe aceeași cale, îl omoară într-un timp variind de la 20 de minute la 18 ore. La autopsia acestor din urmă animale se constată o congestie a organelor din cavitatea peritoneală. Pe cale intraperitoneală, dozele variind de la 0,25 la 2 ml omoară în timpul nopții cobaii inoculați ziua; animalele injectate prezintă în timpul vieții contracții puternice și spasmodice ale mușchilor gîtului, neliniște, iar după moarte leziuni congestive și hemoragice în ficat, splină, glande suprarenale.

Pe cale intramusculară, leziunile îmbracă aspectul cel mai caracteristic. Doza de 1 — 2 ml provoacă îndată după injecție, tremurături și contracții puternice, localizate la mușchii capului și gîtului. Local, cîteva ore după inoculare se produce o tumefacție, iar pielea devine roșie-violacee; sub piele procesele litice evoluează foarte repede; țesuturile locale se lichefiază, pielea este și ea, în cele din urmă, cuprinsă de acest proces, și conținutul leziunii, compus dintr-o masă hemoragică în care plutesc porțiuni de țesuturi, se elimină; oasele piciorului, dacă injecția s-a făcut în mușchii coapsei, rămîn goale; ligamentele articulației coxofemurale sau a altei articulații pot fi și ele lichefiate și, în acest caz, oasele se desprind și cad. Țesuturile învecinate cu locul de injecție prezintă un edem hemoragic. Animalul moare după 12—48 de ore. În leziune, ca și în lichidul peritoneal, numărul bacililor este foarte mare.

Patogenitatea variază de la o tulpină la alta. Ungureanu și Greceanu (1955) au izolat o tulpină care omoară cobaiul, pe cale intramusculară, chiar în doză de 1/500 ml de cultură de 24 ore în bulion. Cobaii inoculați cu această doză mureau în 3 zile, cu leziuni caracteristice.

Iepurele se comportă ca și cobaiul; pe cale intravenoasă, dozele mari, 2 — 5 ml îl omoară în cîteva minute, iar pe cale intramusculară, dozele de 1 — 5 ml produc leziuni, avînd aceeași evoluție și același aspect ca și cele de la cobai.

Șoarecele este omorît pe cale intramusculară de doze mici 0,1 ml în 2—3 zile, iar de doze mai mari pe aceeași cale în cîteva ore.

Șobolanul este mai rezistent ca șoarecele; totuși, dozele de 3 — 5 ml îl omoară, pe cale intramusculară, în 3 — 4 zile.

Infecția naturală. Weinberg și colaboratorii, i-au găsit în gangrenele umane într-un procent de 6%. Arapov într-un procent de 1% (după date din literatură), iar alți cercetători (Spein și col., 1946) nu l-au întîlnit niciodată în flora gangrenelor gazoase umane. Se pare deci că acest anaerob intervine rar în producerea gangrenelor gazoase umane. El nu a fost izolat decît o dată singur într-o leziune gangrenoasă umană; în toate celelalte cazuri citate în literatură, bacilul histolitic a fost găsit împreună cu alți anaerobi. La animale este încă și mai puțin frecvent. A fost găsit totuși, după Weinberg, în șase cazuri de gangrenă traumatică la cal și anume, în trei cazuri singur, iar în celelalte trei asociat cu alți anaerobi (vibrionul septic sau *Bac. perfringens*). Ungureanu și Greceanu (1955) l-au izolat de la un berbec care prezenta o tumefacție a capului.

Serul imun. Caii imunizați cu anatoxină și apoi injectați în repetate rînduri cu toxină, rezultată din centrifugarea culturii, dau un ser antitoxic foarte activ. El conține pînă la 100 U.A. internaționale sau 6 000 unități pe 1 ml, ceea ce înseamnă că a 6 000-a parte din 1 ml neutralizează o doză de toxină pentru iepure. Guillaumie (1952) observă că unii cai produc cantități apreciabile de antitoxină, după 2 luni de tratament, alții însă, chiar după repetate injecții de toxină, făcute timp de 7 luni, nu dau decît seruri sărace în anticorpi. Serul antihistolitic neutralizează principii necrozanți pentru piele conținuți de toxină, precum și fermenți proteolitici. El neutralizează de asemenea hemolizinele proprii, precum și hemolizinele vibrionului septic (Guillaumie și col., 1947). Titrarea sa se poate face determinîndu-i conținutul în antitoxine alfa, beta și gama (Oakley și Warrack, 1950).

Guillaumie și colaboratorii (1952) au observat că injecția vibrionului septic la caii hiperimunizați cu toxină histolitică duce, la unele animale, la creșterea titrului antihistolitic, ceea ce se datorește antigenilor pe care vibrionul septic îi are în comun cu bacilul histolitic. În condiții similare, toxina speciei *Cl. oedematiens* nu produce un asemenea efect. În același sens, Ștefănescu și Gorun (1956) constată că la cobai un amestec de ser antiperfringens, ser antivibrion septic și ser antioedematiens neutralizează o infecție făcută cu un amestec de bacili detoxificați prin spălări repetate și aparținînd speciilor *Bac. perfringens, vibrionul septic, Bac. oedematiens* și *Bac. histolyticus*. Pe baza acestor rezultate și sprijinindu-se pe date statistice, din care reiese rara frecvență a bacilului histolitic în gangrenele umane, propun să se folosească pentru tratarea acestor infecții, un ser antigangrenos trivalent și nu tetravalent (să se excludă deci, din acest amestec, serul antihistolitic, adăugîndu-se în schimb o cantitate mai mare de ser antiperfringens).

BIBLIOGRAFIE

ARAPOV A. — Infecția anaerobă a plăgilor, Moscova, *Medghiz*, 1950.

CARLEN A. S. — Proprietățile fibrinolitice ale bacililor histolitici în soluție salină și ser de cîine. *Proceed. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1939, 40, p. 39.

COMBIESCU N. — Leziuni histolitice produse de bacilul histolitic la cobai. *Ann. Inst. Pasteur*, 1925, 39, p. 355.

GUILLAUMIE M. și col. — Considerații asupra preparării serului antihistolitic. *Rev. Immunol.*, 1952, 16, p. 257.

GUILLAUMIE M. și BECOULET G. — Proprietățile antihemolitice ale serurilor antivibrion septic, antihistolitice și antiperfringens. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, 141, p. 142.

GUILLAUMIE și col. — Proprietățile diverselor seruri antigangrenoase în cursul imunizării calului. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 83, p. 360.

JENNINSON M. — Activitatea colagenazică a filtratelor culturilor de Cl. histolyticum. *J. Bact.*, 1947, 54, p. 55.

KAHN M. și col. — *J. inf. Dis.*, 1924, 35, 423 și 1925, 36, p. 517.

NASTA M. — Contribuții la studiul acțiunii bacilului histolitic asupra țesuturilor. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, 87, p. 279.

OAKLEY L. C. și WARRACK H. — Antigeni alfa, beta și gama la Cl. histolyticum. *J. gen. Microbiology*, 1950, 4, p. 365.

PARKER C. R. și col. — Efectele infecției histolitice și ale toxinei asupra tumorilor transplantabile ale șoarecilor. *Proceed. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1947, 46, p. 461.

PASTERNACK C. J. — Modificările produse de toxina bacilului histolitic la animalele de experiență. *Publ. Haelth. Rep.*, 1940, 55, p. 775.

PETERSON E. și HALL — Izolarea bacilului histolitic din sol în California. *Proceed. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1923, 20, p. 502.

SPEIN J. și col. — Flora anaerobă în miositile clostridiale. *J. Bact.*, 1946, 51, p. 271.

ȘTEFĂNESCU și GORUN — Valoarea preventivă a serului antigangrenos polivalent. *Arch. Rom. Epidemiol. Microbiol.*, 1956, 1, p. 273.

Clostridium sporogenes (Mecinikov) Bergey et al. 1923

Sinonime: *Bacillus sporogenes var. A* Mecinikov, 1908. *Bac. putrificus verrucosus* Zeissler, 1918

Cl. sporogenes a fost cunoscut mai de mult, dar separarea lui de ceilalți anaerobi și identificarea sa ca specie aparte au fost făcute, în 1908 de Mecinikov. Acesta a izolat întîi germenul de la un bolnav cu colită cronică și apoi din intestinul unui individ sănătos. Germenul izolat de la omul sănătos a fost numit de autor *sporogenes A,* iar cel izolat din intestinul bolnavului de colită, *sporogenes B.* Diferențele între cele două tulpini sînt de natură biochimică. Germenul a fost apoi izolat de Choukevitch din intestinul calului, de Weinberg și Séguin din gangrenele umane putride, de Zeissler și Rassfeld din pămînt (80 de probe pozitive din 200 examinate). *Cl. sporogenes* este unul din anaerobii foarte răspîndiți în natură și are un rol însemnat în procesele de putrefacție, fiind unul din proteoliticii cei mai energici. Se izolează frecvent din conținutul intestinal, precum și din cadavre și materiile proteice intrate în putrefacție.

Caractere morfologice. Bacilul este mobil și sporulat, lung de 3—8 microni, lat de 0,5—1,1 microni. În culturi, elementele celulare sînt izolate sau pot forma lanțuri; se pot prezenta și sub formă de filamente. Se apropie prin mobilitatea și forma sa, de vibrionul septic.

Sporulația este energică în mediile de cultură ca și în țesuturi. Sporii sînt situați central sau subterminal. Ei sînt prezenți în culturile de 24 de ore și numeroși în cele de 60 de ore. Mediile bogate în materii proteice favorizează sporulația. Sporii rezistă la fierbere 1 oră sau chiar mai mult.

Caractere culturale. Cultura este puțin abundentă în bulion simplu, dar este bogată în bulion glucozat. Mediul inițial este tulburat de dezvoltarea microbiană, dar, după cîteva zile, se clarifică, formîndu-se un depozit abundent. În geloză profundă coloniile au aspect variabil; dimensiunile lor sînt apreciabile, pînă la mărimea unui bob de mazăre. La microscop ele prezintă un centru opac, înconjurat de o zonă de arborizații fine.

Pe agarul cu sînge coloniile sînt opace, de culoare albă sau galbenă, de forma unui neg înconjurat de fine prelungiri laterale, vizibile numai cu lupa; în jurul coloniei se observă o zonă puternică de hemoliză.

Proprietăți biochimice. Bacilul fermentează glucoza, maltoza și unele tulpini și salicina.

Proteolitic energic, el lichefiază gelatina în mai puțin de 24 de ore; are aceeași acțiune și asupra serului coagulat, pe care îl înnegrește. Digeră albuşul de ou coagulat. Blanc şi Pozersky, citat, în Weinberg, au studiat activitatea proteolitică a culturilor în raport cu filtratele respective. Faţă de gelatină, filtratul este tot aşa de activ ca şi cultura integrală: 0,3 ml digeră 2 ml de gelatină 10% în 10 minute. Albuşul de ou coagulat este digerat complet de cultura integrală în 8 zile; filtratele sînt mai puţin active şi nu produc niciodată o topire completă. Faţă de serul coagulat, cultura totală realizează o topire completă în 4 zile, în timp ce filtratele sînt puţin active. Laptele este coagulat atît de filtrate, cît şi de cultură; caseina rezultată este digerată în proporţii de 9/10 de cultura totală şi de 6/10 de filtrat. Culturile bacilului sporogenes digeră muşchiul crud de cobai, dacă acesta a suferit în prealabil, o disociaţie mecanică; filtratele sînt însă inactive. In general, culturile integrale digeră albuminele crude, dar acestea nu sînt digerate de filtrate.

Activitatea dezintegrantă faţă de proteine se datoreşte unor fermenţi microbieni activi între pH=6,0 şi 7,0. Fermenţii ar fi constituiţi dintr-o protează care transformă albuminele în peptone, dintr-un ferment analog tripsinei şi erepsinei care atacă albuminele coagulate şi dintr-o amidază care desface aminoacizii. Proteinele sînt desfăcute de aceşti fermenţi pînă la termenul de aminoacizi şi amoniac. Gazele care se degajă, în mod constant din cultură sînt constituite în mare parte din amoniac. Fermenţii bacilului se aseamănă cu cei secretaţi de pancreas. Serul normal, ca şi serul imun, îi neutralizează.

Bacilul nu produce indol; unii autori au pus în evidenţă, în culturile de *Cl. sporogenes,* urme din această substanţă. Produce, în abundenţă, hidrogen sulfurat. Cultivat în medii cu ser coagulat, albuş de ou, carne etc. produce un pigment negru, care colorează intens lichidele nutritive.

Patogenitate. *Cl. sporogenes* este, după Zeissler, apatogen în cultură; el poate agrava, prin activitatea sa proteolitică, procesele morbide provocate de anaerobii patogeni; amestecat cu o doză submortală de *Cl. perfringens* provoacă, la cobai, o leziune locală gravă şi mortală. Se pare că el constituie, cu *Bac. oedematiens,* o simbioză extrem de strînsă şi foarte greu de desfăcut. Aceste culturi mixte se comportă serologic şi patogenic diferit de culturile pure ale celor două specii. Astfel, activitatea patogenă a culturilor mixte este mai redusă ca a culturilor pure de *oedematiens,* din cauză că fermenţii bacilului sporogenes distrug în mare parte toxina bacilului *oedematiens.*

Weinberg şi colaboratorii săi admit că unele tulpini de sporogenes sînt patogene în cultură pură. Autorii au izolat o asemenea tulpină dintr-o apendicită gangrenoasă. Această tulpină, inoculată subcutan sau intramuscular la cobai în doză de 3—5 ml, dintr-o cultură de 24—48 de ore în bulion, produce un flegmon gazos putrid. Animalul rezistă, de cele mai multe ori, infecţiei; local se constituie o escară vindecabilă. Unele animale însă mor; la acestea se constată o digestie a ţesuturilor la locul injecţiei şi un edem al ţesuturilor învecinate.

Filtratele culturilor de sporogenes sînt toxice. Cobaii injectaţi, intravenos, cu 3 ml din filtratul unei culturi de 24—48 de ore, mor în 30—60 de minute.

Weinberg și colaboratorii, au constatat că din 10 tulpini de sporogenes examinate, una secreta hemolizine active față de globulele roșii de om, oaie și cobai.

Bacilul sporogenes pare a juca un rol în etiologia unor tulburări intestinale la om. El complică, prin procesele de proteoliză, gangrenele gazoase provocate de alți anaerobi.

BIBLIOGRAFIE

MECINIKOV I. — Studii asupra florei intestinale. *Ann. Inst. Pasteur,* 1908, 22, p. 929.

GRUPA BACTERIILOR ÎN FORMĂ DE VIRGULĂ ŞI GRAM NEGATIVE

Genul *Vibrio* Müller, 1773

Genul, creat de Müller (*Vermium terrestrium et fluviatilum*, 1773) cuprinde un număr însemnat de specii, printre care şi *Vibrio comma* sau *Vibrio cholerae*, agentul holerei asiatice. Speciile genului au comun:

1. forma curbă, în virgulă sau uşor spiralată;
2. incapacitatea de a sporula şi de a reţine culoarea Gram.
3. mobilitate, care este datorită unui cil polar sau unei grupe de cili polari;
4. cultivabilitatea pe medii obişnuite;
5. răspîndirea mare în natură, mai ales în ape.

Majoritatea speciilor sînt saprofite. Speciile patogene mai importante sînt: *V. cholerae, V. metchnikovii* şi *V. foetus*. David (1927) a izolat o specie, *V. piscium* de la peştii morţi în cursul unei enzootii, pe care el o consideră ca fiind provocată de acest germen.

Speciile patogene ca şi o serie de specii saprofite sînt aerobe; există însă şi specii anaerobe ca *V. stomatitis* (Repaci) Prévot, (1940). *V. bucalis* (Repaci) Prévot, 1940 etc., descrise şi încadrate în acest gen de Prévot (1940).

Vibrio cholerae Neisser, 1893

Sinonime: *Vibrio comma* (Schroeder) Winslow et al. 1920 (epitetul comma vine de la Kommabacillus, bacil în virgulă, dat de Koch, descoperitorul speciei, în 1884). *Vibrio cholerae asiaticae*. Holland, 1920.
Numele comun: Vibrionul holeric sau vibrionul holerei asiatice

Morfologie. Celula se prezintă ca un bastonaş scurt, încurbat, asemănător cu o virgulă (de unde numele de comma, cuvînt de origine latină şi care înseamnă virgulă). Măsoară 1—5 microni lungime şi, în medie, 0,3 microni lăţime. De regulă elementele sînt izolate şi numai rar sînt grupate cîte două sau în lanţuri scurte. Cînd sînt grupate cîte două, aspectul lor este de S sau ∽.

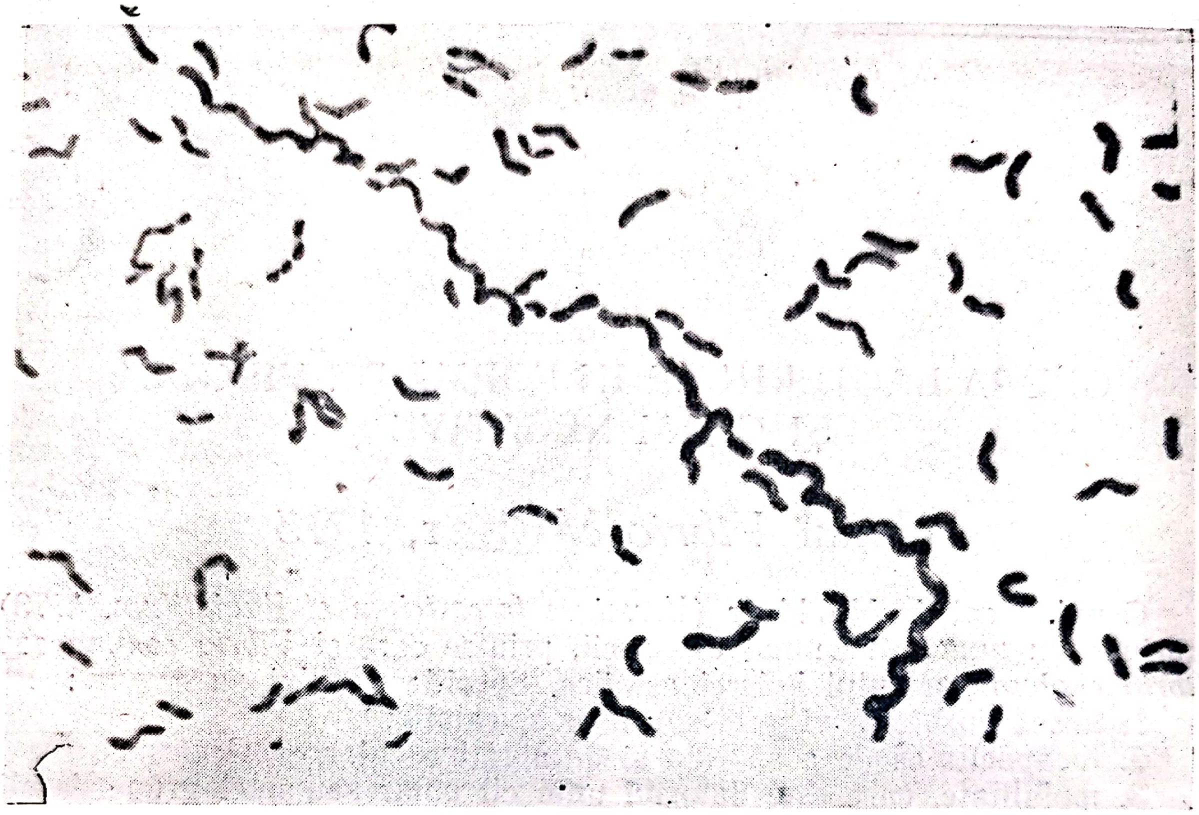


Fig. 136 — *Vibrio cholerae;* × aprox. 2 200 (din Jordan-Burrows, 1950)
Cultură de două zile

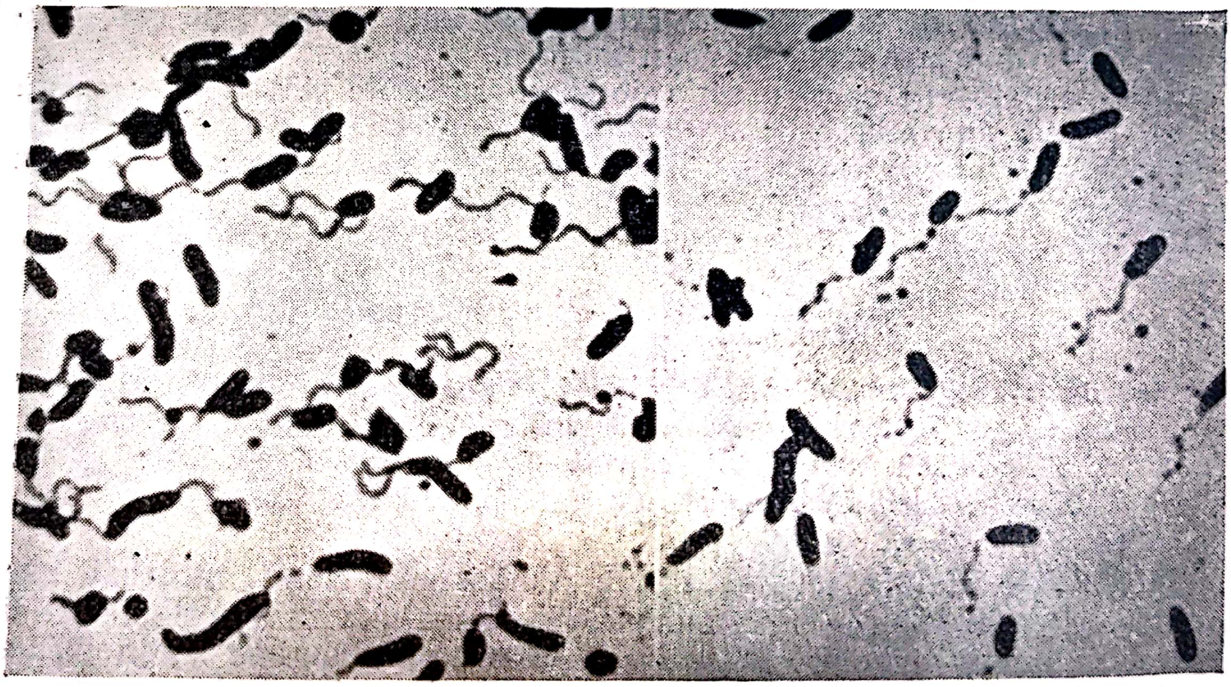


Fig. 137 — *Vibrio cholerae* — stînga — și vibrionul lui Finnel și Prior — dreapta; × 2 000 (din Jordan-Burrows, 1950)

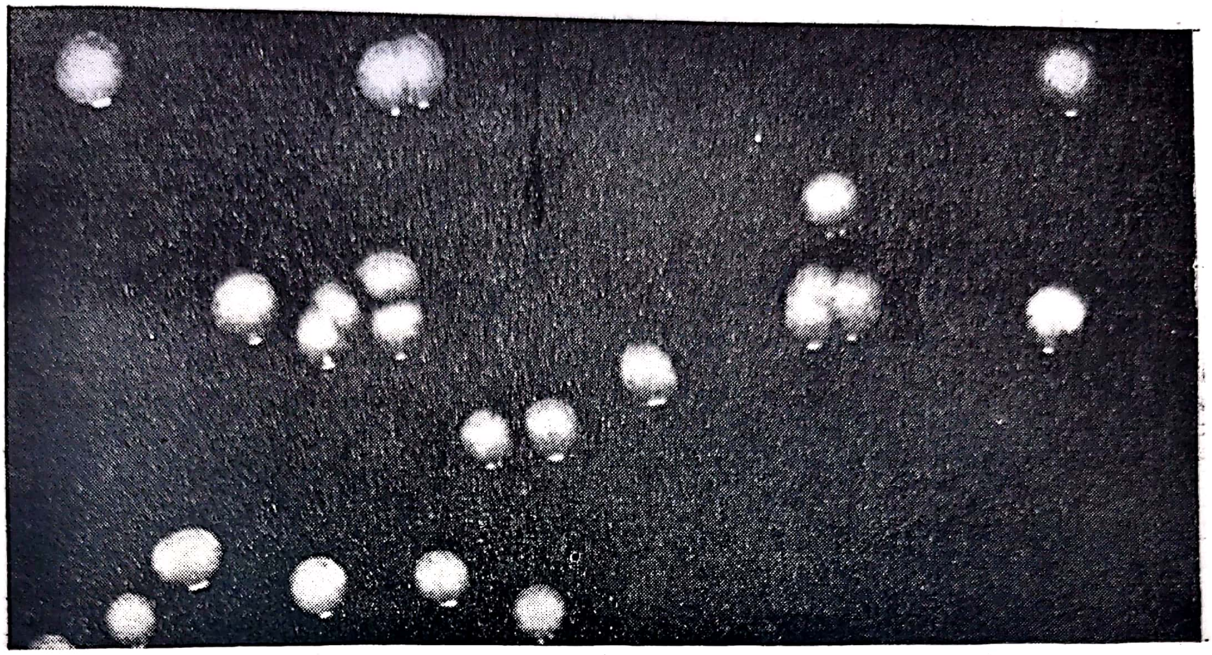


Fig. 138 — Colonii de *Vibrio cholerae;* × 6 (din Jordan-Burrows, 1950)

Germenul nu capsulează şi nu sporulează. Are un cil polar.

Gram negativ.

Medii şi caractere de cultură. Se cultivă pe medii obişnuite, fiind un aerob strict. În bulion sau apă peptonată formează, la suprafaţă, după o incubaţie de 6—9 ore la 37°C, o membrană fină, iar în mediu, o uşoară tulburare. La fundul tubului se constituie, cu timpul, un depozit. Pe agar, germenul formează colonii mici, 1—2 mm, rotunde, cu suprafaţa uşor granulată. După aspectul coloniei pe agar se disting trei tipuri rugos, opac şi intermediar. Germenii imobili formează colonii opace. Pe cartof, germenul formează colonii lucioase, colorate în brun-ciocolatiu.

Caracteristic, pentru vibrionul holeric, este dezvoltarea sa rapidă în medii sărace cum este, de exemplu, apa peptonată, alcalină (pH=8,0—8,2). Această proprietate permite ca prin treceri repetate din 6 în 6 ore, pe un asemenea mediu, să se poată izola vibrionul holeric dintr-o cultură mixtă.

Germenul nu se dezvoltă în medii acide.

Temperatura optimă de dezvoltare este 37°C.

Structura antigenică. Bălteanu (1926) a precizat că germenul conţine doi antigeni: unul somatic şi altul flagelar. Vibrionii holerici şi potenţiali holerigeni formează, pe baza antigenului flagelar comun, o grupă numită A, în timp ce vibrionii de la animale şi din apă constituie grupa B. Vibrionii grupei A se împart, ţinînd seama de structura antigenică O somatică, în şapte subgrupe, notate cu cifre romane de la I la VII. Aproape toţi vibrionii izolaţi de la holerici aparţin subgrupei OI; aceştia nu sînt hemolitici, dar produc hemodigestia globulelor roşii de capră, care îşi schimbă culoarea, dar îşi păstrează forma. În subgrupa OI s-au putut pune în evidență două tipuri, care se deosebesc între ele prin natura antigenului O.

Proprietăți biochimice. Vibrionul holeric fermentează cu producție de acid, dar nu de gaze, în 24—48 de ore, manita, glucoza, maltoza și zaharoza și unele tulpini, după 10—14 zile, lactoza, uneori și salicina.

Proteolitic activ; lichefiază gelatina și serul coagulat. Reduce nitrații în nitriți. Produce indol și hidrogen sulfurat. Hemolizează globulele roșii de cal, oaie, iepure, unele tulpini producînd zone de decolorare totală (hemolizina beta), altele înverzirea mediului (hemolizina alfa), dar numai pe hematii de om sau capră.

Patogenitate. Experimental, vibrionul holeric este patogen pentru șoarece, cobai și iepure. Cobaii, în special cei tineri, injectați intraperitoneal, cu culturi virulente, mor în 24 de ore, prezentînd la autopsie o congestie a seroasei peritoneale și pleurale. Germenul se izolează din cavitatea peritoneală. De la animalele injectate cu doze mari, germenul se poate izola și din sînge.

La iepurii tineri, ca și la cobai, după iritarea intestinului cu podofilină, neutralizarea acidității gastrice cu soluții alcaline și paralizarea mișcărilor intestinale printr-o inoculare intraperitoneală, de exemplu de opiu, se poate reproduce un sindrom experimental similar cu holera umană.

Patogenitatea tulpinilor pentru animale se reduce repede prin conservare în laborator.

Infecția naturală. Vibrionul holeric este patogen în condiții naturale numai pentru om la care produce o infecție cu o evoluție rapidă și gravă, numită holeră sau holera asiatică.

Boala este originară din Asia, din Delta Gangelui. În cursul secolului al XIX-lea, în urma creșterii relațiilor comerciale dintre Asia și Europa, a invadat, în repetate rînduri, Europa, unde a făcut nenumărate victime. În urma măsurilor de protecție luate, boala și-a restrîns în prezent foarte mult aria geografică. Totuși, în 1946—1947, Egiptul a avut de suferit o gravă epidemie de holeră.

Infecția se răspîndește prin purtători și apă și are o mare putere de difuziune. Apele sînt infectate de către purtători.

Germenul pătrunde în organism pe cale bucală. Sanarelli, contrar celor afirmate de predecesorii săi, a afirmat că vibrionii ajung în intestin nu direct, ci pe cale hematogenă, pătrunzînd în torentul circulator la nivelul mucoasei bucale. Ajunși pe o cale sau alta, la nivelul mucoasei intestinale, vibrionii încep să se multiplice și, după o perioadă de incubație de 36—96 de ore, simptomele își fac apariția. Ele constau din diaree, a cărei gravitate variază de la un caz la altul, vărsături, crampe, oligurie, hipotermie, cianoză și duc într-un procent ridicat la moarte. Alteori boala are un caracter benign și bolnavul se vindecă spontan.

Diagnosticul se sprijină pe examen clinic, anatomo-patologic și în special bacteriologic. Diagnosticul bacteriologic începe prin examenul microscopic al scaunului: în picătura suspendată prin examen direct se găsesc la holerici numeroși germeni foarte mobili; în frotiul colorat cu fucsină Ziehl, diluată 1/10, predomină formele în virgulă, Gram negative. După examenul microscopic se fac însămînţări şi apoi izolarea şi identificarea germenului prin examenul caracterelor morfologice, culturale şi biochimice.

În vederea identificării germenului se recurge şi la probe serologice, aglutinare, precum şi la proba de bacterioliză prin ser imun (fenomenul Pfeiffer-Isaev).

Profilaxia se sprijină pe măsuri sanitare şi specifice. Vaccinarea dă cele mai bune rezultate, aşa cum a rezultat în special din cercetările făcute de Cantacuzino şi col. în cursul epidemiei din 1913.

Tratament. Sulfamidele — sulfaguanidina — au dat rezultate favorabile în tratamentul holerei la om.

Vibrio metchnikovii Gamaleia, 1888

Acest vibrion a fost izolat de Gamaleia, în 1888, din organele şi conţinutul intestinal al unei găini moarte cu simptome de holeră (pasteureloză). Se poate găsi în apă.

Germenul se aseamănă cu *Vibrio cholerae* atît ca formă, cît şi ca dimensiuni şi celelalte caractere morfologice.

Se dezvoltă pe medii uzuale, tulburînd bulionul şi producînd o cultură abundentă pe geloză.

Biochimic, se aseamănă cu vibrionul holeric.

Este patogen pentru porumbel, găină şi cobai. Se deosebeşte de vibrionul holeric prin patogenitatea sa pentru porumbel pe cale intramusculară şi lipsa sa de patogenitate pentru om. Deosebirea între cele două specii se poate face şi prin metode serologice, inclusiv fenomenul Pfeiffer-Isaev.

Vibrio foetus Smith şi Taylor, 1919

Sinonim: *Spirillum foetus* Lehmann şi Neumann, 1927

Bacteria a fost identificată, ca agent al avortului la oi şi capre, de Mac Fadyean şi Stockman, în 1909. Germenul a fost găsit apoi şi în avortoni de vacă.

Morfologie. Celulele sînt alungite şi adeseori curbate; măsoară 1,5—5 microni lungime şi 0,2—0,5 microni lăţime. În culturi vechi se prezintă sub formă de spirale lungi (Binns şi Fincher, 1954). Germenul este Gram negativ, nesporulat, uneori capsulat.

Mobil: are 1 sau 2 cili polari.

Medii şi caractere de cultură. Germenii însămînţaţi direct din materialul patologic nu se dezvoltă pe agarul simplu, dar cresc pe agar cu sînge defibrinat sau în agar moale cu ser, într-o atmosferă care conţine 20% bioxid de carbon (Trilenko, 1953). Izolarea germenilor din materiale patologice este uneori foarte dificilă. În laborator, germenii se adaptează crescînd apoi pe agarul simplu, la suprafaţa căruia cultura se dezvoltă într-un strat fin, de culoare albă-cenuşie. Ristic şi colaboratorii (1956)

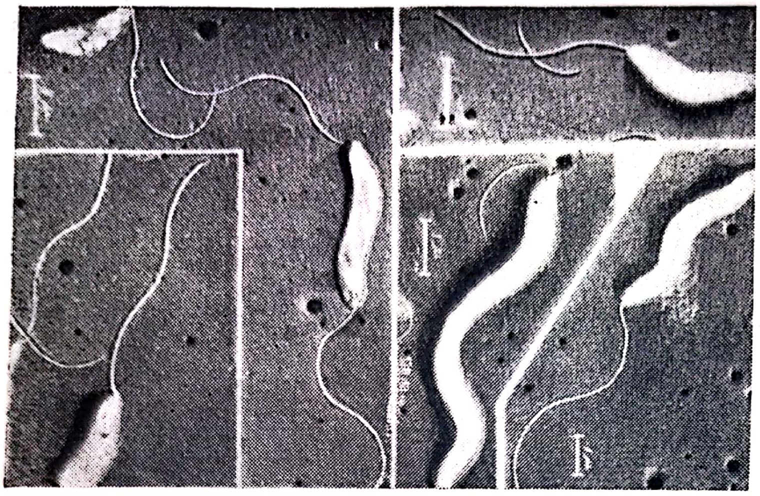


Fig. 139 — Diverse aspecte ale speciei *Vibrio foetus* (după Rhoades)

Imagini electronice

au descris colonii de tip S și mai multe tipuri de colonii R. Se dezvoltă în bulion, dînd o cultură puțin abundentă; mediul este ușor tulburat; la suprafață se formează o peliculă, iar pe fund un ușor depozit.

Morgan (1957) folosind un mediu avînd compoziția de mai jos reușește să izoleze *Vibrio foetus* din vaginul vacilor infectate precum și din spălăturile prepuțiale ale taurilor infectați.

În organele genitale ale taurinelor, așa cum au arătat Bryner și Frank (1955), se mai poate găsi și un alt vibrion care se deosebește de *Vibrio foetus* prin aceea că nu dă proba catalazei pozitivă, dar produce SH_2.

Mediul folosit de Morgan are următoarea compoziție:

Apă	1000 ml
Agar	25 g
Peptonă Evans	10 g
Lemco	10 g
Na Cl	5 g
Tioglicolat de sodiu	1 g
pH — 7,6	

Autoclavare 15 minute la 121°, răcire la 56° și apoi se adaugă 10% sînge defibrinat de bou sau oaie. Se toarnă în plăci. Mediul însămînțat se incubează 6 zile la 37° într-o atmosferă cu 10% CO_2.

Germenul nu se dezvoltă pe gelatină și nici pe cartof. Se dezvoltă în oul embrionat de găină, producînd leziuni ale endoteliilor vasculare precum și în rinichi, piele, splină și creier (Webster și Thorp, 1953).

Temperatura optimă 37°C. Aerob facultativ.

Proprietăți biochimice. Nu produce indol. Produce o slabă acidificare a mediilor care conțin glucoză, lactoză sau zaharoză.

Structura antigenică. S-au descris mai multe tipuri serologice (seroaglutinare). Se afirmă că tulpinile izolate de la ovine diferă antigenic de cele izolate de la bovine. Marsh și Firehammer (1953), studiind 23 de tulpini ovine și 3 bovine, găsesc că tulpinile ovine cercetate constituie patru tipuri serologice, iar tulpinile bovine un al cincilea tip. Florent (1954) afirmă că *Trichomonas foetus* are un antigen comun cu *V. foetus*. Afirmația autorului se sprijină pe constatarea că mucusul vaginal al unei

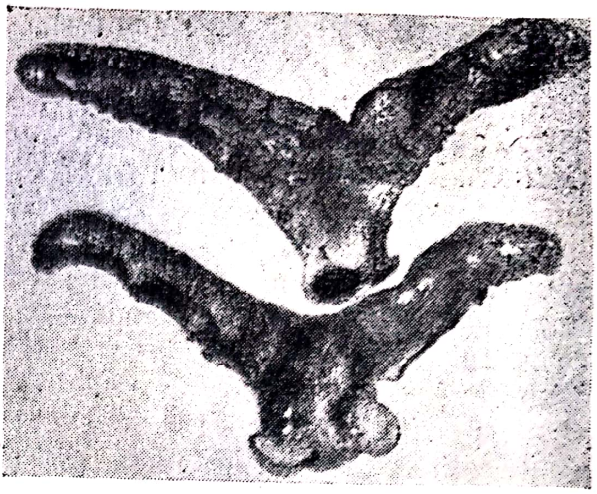


Fig. 140 — Leziuni produse de *Vibrio foetus* în uter de cobăițe

juninci, infectate experimental cu protozoarul amintit, aglutina atît *Tr. foetus*, cît și *V. foetus* și că prin adsorbția sa cu *V. foetus* el și-a conservat încă o oarecare putere aglutinantă pentru *Tr. foetus*.

Rezistență. Se distruge ușor prin căldură și antiseptice. Culturile în bulion sînt, de exemplu, distruse printr-o încălzire de 5 minute la 56°C. Tulpinile recent izolate rezistă puțin timp în culturi și pentru conservarea lor pasagiile trebuie făcute din săptămînă în săptămînă. După adaptarea lor la mediile de laborator, germenii rezistă 1—2 luni la temperatura camerei.

Infecția experimentală. În condiții experimentale. microbul este patogen, în primul rînd pentru cobăițele pline, la care, în urma administrării orale sau parenterale, provoacă avort și leziuni uterine necrotice, edematoase și hemoragice. Avorturile survin într-un procent ridicat (78%, după Morse și Ristic, 1954), dar nu la toate femelele infectate. Foetușii avortați prezintă leziuni edematoase și hemoragice. Serul cobăițelor infectate per os conțin constant aglutinine, la titruri variind de la 1/10 la 1/40. Hamsterii masculi, după Ristic și colaboratorii (1954), sînt de asemenea receptivi și germenii injectați intraperitoneal se localizează în țesutul testicular, de unde se pot transmite, prin fecundație, la femele. Infecția a putut fi transmisă de unii cercetători și la bovine. Astfel, Lawson și Mackinnon (1953), experimentînd pe 90 de vițele, au constatat că infecția se transmite frecvent prin fecundație; sperma, natural sau experimental infectată, provoacă, la vițele, simptomele infecției spontane — avort și sterilitate. Autorii nu au reușit să reproducă boala prin administrarea orală a culturilor sau prin depunerea lor la mucoasa conjunctivală. De asemenea, autorii observă că infecția nu se transmite prin contact; vacile sănătoase care au coabitat cu vaci bolnave au fătat la termen și nu au prezentat tulburări de reproducție (sterilitate). Transmiterea prin contact pare totuși posibilă.

Infecția naturală

Arie geografică și importanță economică. Infecția cu *Vibrio foetus* este foarte răspîndită și a fost identificată în Japonia, S.U.A., Canada, U.R.S.S., și multe alte țări europene. În Suedia, de exemplu, 10% din totalul avorturilor înregistrate la bovine sînt provocate de acest germen. Boala a fost semnalată de asemenea în Franța (Vallée, 1954, Jacotot și col., 1954), precum și în Polonia (Stepkovski și Winiarski, 1954). În țara noastră, primele cazuri de avort vibrionic la bovine au fost diagnosticate, în 1953, de Stamatin, Ungureanu și Pătrășcanu, (1954). In 1955, Volintir mai identifică încă patru cazuri. La ovine, infecția a fost identificată de asemenea în numeroase țări. Tudoriu și colaboratorii (1956) și Marian și colaboratorii (1956) o descoperă în R.P.R. Biswal și colaboratorii (1953) au identificat-o în S.U.A., constatînd că într-o turmă de oi procentul de avorturi vibrioniene a fost de 28%. Titrul aglutinant, la oile care au avortat, a atins cel mult valoarea de 1/400. Germenul se pare că a fost găsit și la om (Weismann-Netter și col., 1954, Auguste și col., 1954).

La noi în țară, cel puțin pînă în prezent, infecția vibrioniană atît la bovine, cît și la ovine, nu manifestă tendința marcată de difuziune; ea apare ca o infecție sporadică și condiționată de intervenția altor factori abortigeni de natură alimentară sau infecțioasă. Astfel, din unul din avortonii de oaie examinați de Tudoriu (1956), pe lîngă *V. foetus*, s-a izolat și *Salm. abortus ovis*, iar epizootia de avort a evoluat în turme cu însemnate deficiențe alimentare și igienice. De altfel, Goertler (1956) Wohanka (1956) se îndoiesc de rolul acestui germen în patologia bovină în special și nu consideră că există totdeauna o legătură între prezența speciei *V. foetus* în organele genitale la masculi sau femele și avort sau sterilitatea enzootică. Autorii își sprijină opinia, atît pe date epizootologice, cît și pe faptul că germenul nu pare să reproducă, în condiții experimentale, infecția la bovine, ceea ce este în contradicție cu numeroase date comunicate de diverși cercetători.

Evoluția infecției. Germenul infectează, în special la bovine, mai rar la ovine, embrionii, producînd moartea și expulzarea lor. Fetușii avortați pot prezenta un edem al țesutului conjunctiv subcutan și noduli necrotici în ficat. Vibrionii se găsesc în conținutul stomacal și intestinal, în lichidul din cavitatea pleurală și peritoneală, în sîngele din cord, ca și în placentă și lichidele alanto-amniotice.

În condiții naturale, infecția se răspîndește mai puțin frecvent prin contact direct (germenul, în acest caz, pătrunde în organism probabil pe cale digestivă), și mult mai frecvent prin montă; taurii cu spermă infectată sau cei cu spermă neinfectată, dar care au montat recent o vacă infectată, transmit, cu regularitate, boala. Germenul la tauri este de obicei localizat pe mucoasa prepuțială, unde persistă mult timp fără a produce vreo leziune, ceea ce face foarte dificil diagnosticul. La vaci, germenul se localizează pe organele genitale și produce vaginite, endometrite, mai rar salpingite. La examentul vaginal al vacilor bolnave se pot constata fie hiperemii și secreții muco-sanguinolente (evoluția acută a bolii), fie noduli situați în straturile submucoase ale vaginului (evoluție cronică). Stengenga și colaboratorii (1949) admit că este o legătură între infecția cu *Vibrio foetus* și sterilitatea enzootică, care se observă la bovine în unele țări ca Olanda, Suedia etc. Sterilitatea, ca o consecință a infecției vibrionice, are un caracter particular; ea durează 3—4 luni, timp în care se observă călduri neregulate și violente. O dată acest timp trecut, vacile devin fecunde și într-o cireadă în care toate animalele au trecut prin boală, germenul nu mai produce tulburări decît la primipare.

Diagnosticul infecției la vacile adulte se face prin examenul clinic și de laborator. De la avortoni, în scop de diagnostic, se fac frotiuri din cheag, leziuni placentare și organe, precum și însămînțări din diverse organe, pe medii diferite. Materialul infectat se însămînțează pe medii cu penicilină (1 000 U. I. pe 1 ml) și sulfatiazol (1 mg pe 1 ml). Cultura devine vizibilă după 48—72 de ore. Seroaglutinarea dă rezultate pozitive, permițînd diagnosticul infecției. Serul vacilor care au avortat poate aglutina germenul pînă la titrul de 1/6 000 (Trilenko, 1953). Aglutinarea se face cu ser sanguin, dar rezultate mai bune se obțin cu secreții vaginale, care se recoltează prin tampoane sterile (metoda Szabó, 1951), (Lawson și Mackinnon, 1953). O reacție pozitivă corespunde unei infecții certe, o reacție negativă, după Hughes (1953), nu o poate exclude. Un bun antigen, pentru proba de seroaglutinare, se obține din culturile pe mediu hormonal lichid al lui Huntoon. Mediul conține 10% ser de cal și incubația culturilor se face într-o atmosferă cu 15% CO_2. Culturile se centrifughează, depozitul se ia cu apă fiziologică și se formolează 0,3% (Firehammer și Marsh, 1953).

O deosebită importanță în profilaxia bolii o prezintă identificarea taurilor infectați, folosiți pentru montă. Pentru descoperirea acestor tauri se folosesc juninci, la care se provoacă călduri artificiale, prin expresiunea corpilor luteinici. În momentul căldurilor, junincile se infectează cu depozitul de centrifugare al spermei și al spălăturilor prepuțiale de la taurii de examinat. Depozitul este depus intracervical și după 3—4 zile se fac biopsii din cervix și uter; acestea se însămînțează pe medii semilichide cu ser. Tuburile astfel însămînțate se incubează într-o atmosferă de CO_2 (Rasbech, 1954). Pentru fiecare taur se folosesc două vițele.

Profilaxia constă din măsuri de izolare și mai ales din identificarea taurilor infectați și eliminarea lor de la montă. Nu există produse specifice (seruri, vaccinuri) de prevenție și tratament. Vaccinurile moarte s-au arătat de cele mai multe ori inactive. Totuși Urbanelli și Fontana (1954), folosind un vaccin inactivat prin căldură și formol, au reușit să reducă, de la 57% la 10% procentul de avorturi la cobăițele infectate experimental, dar la bovine, același vaccin nu a dat rezultate. Pentru sterilizarea taurilor purtători unii autori recomandă antibioticele. Rezultate pozitive, de exemplu, s-au obținut cu streptomicina în tratament general și local — 8—10 g de sulfat de dihidrostreptomicină subcutan și 2 g din același produs, pus în 40 ml de ulei și aplicat pe mucoasa prepuțială; tratamentul general și local se face 3 zile la rînd. La fel, pentru a se evita transmiterea infecției, în cursul însămînțărilor artificiale, se recomandă diluarea spermei într-un lichid care conține 1 mg de streptomicină pe 1 ml. În cazul montei naturale, se recomandă ca înainte de montă să se injecteze în uter 1 g de streptomicină într-o soluție uleioasă. Tratamentul acesta nu pare a fi totdeauna eficace. Lawson și Mackinnon (1953), în condiții experimentale, găsesc, de exemplu, că sperma cu penicilină (1 000 U. I. pe 1 ml) sau streptomicină (1 000 U. I. pe 1 ml) poate transmite infecția, în cazul cînd conține germenul. Valoarea acestei metode profilactice ar fi, după autori redusă. Orthey și Gilman susțin, din contra că o concentrație de 500 U.I. de penicilină și 500 gama de streptomicină pe 1 ml asigură atît sterilizarea unei suspensii care conține 225×10^{-7} de germeni pe 1 ml, cît și a spermei infectate. Rezultatele variabile obținute de diverși autori sînt probabil în legătură cu diferita sensibilitate față de antibiotice a diverselor tulpini de *V. foetus*.

BIBLIOGRAFIE

AUGUST C. şi col. — Septicemie cu V. foetus la un gastrectomizat în stare de carenţă cu hipoprotidemie. *Arch. Malad. Appar. Digést.*, Paris, 1954. 43, p. 861.

BINNS W. şi FINCHER G. — Vibrioza la bovine. *Cornell Vet.*, 1954, 44, p. 512.

BISWAL G. şi col. — Observaţii asupra unui factor de infecţie vibrioniană la oaie. *J. Am. Vet. Ass.*, 1953, 123, p. 410.

BOYD H. şi LAGERLÖF NILS — Infecţia vibrioniană la bovidee, în Suedia. *Off. Int. Epizooties*, 1954, nr. 2, p. 649.

BRYNER şi FRANK — *Am. J. Vet. Res.*, 1955, 16, p. 76.

DAVID — *Zbl. f. Bakt.*, 1927, 102, p. 46.

FIREHAMMER B. D. şi MARSH H. — Prepararea antigenului pentru descoperirea aglutininelor pentru V. foetus. *Am. J. Vet. Res.*, 1953, 14, p. 392.

FLORENT A. — Trichomonas foetus pierde, in vitro, antigenul pe care îl are în comun cu V. foetus. *C. R. Soc. Biol.*, 1854, 148, p. 1301.

GALLAT J. — Cercetări imunochimice asupra speciei Vibrio foetus. *Ann. Inst. Pasteur.* 1952, 83, p. 449 şi 455.

GOERTLER V. — Problema infecţiei vibrionice şi a cercetărilor în vibrioză. *Monatshefte f. Veterinär medizin,* 1956, 1, p. 99.

HUGHES D. E. — Studiu asupra diagnosticului infecţiei vibrioniene la bovine, cu referinţe speciale privind detecţia aglutininelor în secreţiile vaginale. *Cornell Veter.*, 1953, 43, p. 431.

JACOTOT H. şi col. — Cîteva date asupra infecţiei bovinelor franceze cu V. foetus *Bull. Acad. Vét. France,* 1954, 27, p. 153.

LAWSON R. J. şi MACKINNON J .D. — Transmisia experimentală a speciei V. foetus. *Al XV-lea Congres internaţional de med. vet.*, Stockholm, 1953.

KAWASHIMA H., UIWATA A. şi SUSUKY Y. — Avortul vibrionic al bovinelor şi sterilitatea enzootică. *Off. Int. Epizooties,* 1954, 42, p. 621.

MARIAN A., ADAMEŞTEANU C. şi MORARU GH. — Avort cu Vibrio foetus la oi. *Probleme Zootehnice şi Veterinare*, 1956, nr. 3, p. 55.

MARSH H. şi FIREHAMMER B. D. — Relaţiile serologice între 23 tulpini ovine şi 3 bovine de V. foetus. *Am. J. Vet. Res.*, 1953, 14, p. 396.

MORGAN B. — Izolarea şi identificarea V. foetus la vacă. *Vet. Record*, 1957, 69, p. 32.

ORTLEY A. E. şi GILMAN H. L. — Activitatea antibacteriană a penicilinei şi streptomicinei faţă de V. foetus. *J. dairy Sci.*, 1954, 37/4, p. 416.

PRÉVOT A. R. — Studii de sistematică bacteriană. *Ann. Inst. Pasteur,* 1940, 64, p. 117.

RASBECH O. N. — Infecţia vibrioniană bovină în Danemarca. *Off. Int. Epizooties,* 1954, 42, p. 608.

RHOADES H. — Morfologia V. foetus în microscopia electronică. *Am. J. Vet. Res.*, 1954, 15, p. 630.

RISTIC M. şi MORSE E. V. — Infecţia experimentală cu V. foetus la cobai. *Amer. J. Vet. Res.*, 1953, 14, p. 399.

RISTIC M. şi col. — Transmiterea experimentală a infecţiei cu V. foetus, la cobai şi hamster. *Amer. J. Vet. Res.*, 1954, 15, p. 309 şi p. 599.

RISTIC M. şi col. — Variaţii privind aspectul coloniilor şi structura antigenică la V. foetus. *Am. J. Vet. Res.*, 1956, 17, p. 803.

STAMATIN N., UNGUREANU C. şi PATRAŞCANU L. — Identificarea în R.P.R. la bovine, a unui caz de avort produs de Vibrio foetus. *Anuarul Institutului de patologie și igienă animală,* 1953, 4, p. 243.

STENGENGA și TERPSTRA — Infecția bovideelor cu Vibrio foetus și sterilitatea enzootică. *Tijdschrift voor Diergenees Kunde,* 1949, 74, p. 293.

STEPKOWSKI S. și WINIARSKI M. — Un caz de avort la o vacă produs de V. foetus. *Med. Veteryn.*, 1954, 10, p. 195.

TRILENKO A. P. — Avortul vibrionic la vitele cornute mari. *Veterinaria,* 1953, nr. 6, p. 13.

TUDORIU C. și col.— Studiul unui focar de avort infecțios, la ovine. Izolarea speciei V. foetus de la ovine *Probleme de epizootologie și microbiologie,* I.P.I.A. 1956, nr. IV, p. 40.

URBANELLI L. și FONTANA F. — Infecția vibrioniană genitală la bovine. *Veter. Ital.,* 1954, 5, p. 952.

VALLÉE A. — O afecțiune a bovinelor necunoscută în Franța : Infecția vibrioniană. *Réc. Méd. Vét.,* Alfort, 1954, 130, p. 553.

VOLINTIR V. — Avortul cu Vibrio foetus, în regiunea Stalin. *Probleme Zootehnice și veterinare*, 1956, nr. 7, p. 86.

WEISMAN-NETTER R. și col. — Un caz de septicemie cu V. foetus la un bărbat. *Bull. Soc. Méd.* Paris, 1954, 70, p. 835.

WOHANKA K. — Observații critice asupra problemei infecției vibrioniene genitale la bovine în Germania de mijloc. *Monatshefte f. Veterinär medizin,* 1956, 11, p. 101

GRUPA BACTERIILOR ÎN FORMĂ DE FILAMENT, REGULAT ONDULAT

Grupa cuprinde microorganismele unicelulare, filiforme ; filamentul nu este drept, ci totdeauna spiralat ; spirele sînt regulate, în sensul că se succed la anumite distanțe de pe lungimea filamentului. Microorganismele din această grupă sînt încadrate de Krasilnikov (1949) într-o clasă — clasa *Spirochaetae* Stanier și Niel, 1941, iar în determinatorul Bergey ele constituie un ordin — ordinul *Spirochaetales* Buchanan, 1918— al clasei *Bacteria* sau *Schizomycetes*. Încadrarea lor printre bacterii nu este unanim acceptată și parazitologii, în special, o consideră greșită, socotindu-le protozoare și încadrîndu-le în încrengătura *Protozoa*. Nu există criterii certe de a încadra acești microbi printre animale sau vegetale, astfel că alipirea lor bacteriilor sau protozoarelor se face pe baze subiective. Socotind însă că metodele de cercetare a acestor microorganisme au multe puncte comune cu cele folosite în bacteriologie, este practic ca studiul morfologiei și biologiei lor să se facă odată cu cel al bacteriilor.

Microorganismele din această grupă se numesc în mod obișnuit *spirochete*. Ele sînt mobile, însă mobilitatea nu este datorită cililor, ci mișcărilor rotatorii ale întregii celule.

Nu sînt sporulate.

Unele specii se colorează cu soluțiile obișnuit folosite în bacteriologie, altele nu ; pentru acestea din urmă se recurge la metode speciale de colorare. Unele se văd și pot fi examinate direct la microscop în picătură suspendată și cîmp luminat, altele nu se văd, în aceste condiții, ci numai în cîmpul microscopic întunecat.

Nu se cultivă, în general, pe mediile obișnuit folosite pentru cultivarea bacteriilor.

Unele specii sînt saprofite și se găsesc, în special, în apă, în tubul digestiv al diverselor specii animale — bovine, porcine —, altele sînt parazite și se găsesc, exclusiv, în organismul animalelor receptive.

Unele specii se găsesc în corpul unor insecte, care constituie pentru ele o gazdă intermediară..

Clasificarea spirochetelor

S-au propus mai multe scheme de clasificare a acestor germeni și dintre acestea noi am ales-o pe aceea care se găsește în Bergey, ca fiind mai conformă cu planul general de clasificare a bacteriilor pe care l-am adaptat în această carte. La clasificarea din Bergey am adus însă unele modificări.

Spirochetele alcătuiesc ordinul *Spirochaetales* Buchanan, 1918, familia *Spirochaetaceae* Swellengrebel, 1907; familia conține mai multe genuri și anume: genul *Spirochaeta,* genul *Saprospira,* genul *Cristispira,* genul *Borrelia,* genul *Treponema* și genul *Leptospira.* Vom cerceta, din aceste genuri, cîteva specii, pe care le socotim mai importante pentru patologia comparată.

Genul *Spirochaeta,* Ehrenberg, 1833

Spirochaeta anserina Sacharoff, 1891

Sinonime: *Borrelia gallinarum* Swellengrebel, 1907. *Spirochaeta gallinarum* Lehmann și Neumann, 1907

Agentul și boala, la gîște, au fost semnalate și descrise pentru prima oară, de Sacharoff (1891) în Caucaz. În 1898, Gabritschewsky și, în 1899, Cantacuzino, fac o serie de cercetări experimentale asupra acestei infecții. În 1903, Marchoux și Salimbeni întîlnesc aceeași infecție la găini, în Brazilia, descoperind transmiterea bolii printr-o căpușă, și anume *Argas miniatus.* După aceste prime cercetări, boala a fost identificată și în alte regiuni ale globului, în țările din Africa de nord, în India, Australia. În 1907, Garaitșnov semnalează infecția în Bulgaria, iar în 1909, Mezincescu și Călinescu în Romînia. Mai tîrziu ea a fost identificată în majoritatea țărilor europene ca Ungaria, Austria, Iugoslavia, Germania și Grecia.

Morfologie. *Sp. anserina* se prezintă ca un filament regulat ondulat, cu 5—10 spire, avînd forma unui tirbușon și măsurînd 6—30 microni lungime. În sîngele păsărilor infectate germenul este mobil, prezentînd mișcări rotatori. Este vizibil la microscop, în cîmp luminat sau întunecat. Se înmulțește prin diviziune directă.

Afinități tinctoriale. Se colorează cu coloranții obișnuit folosiți în bacteriologie, fucsină Ziehl diluată, albastru de metilen etc. Imagini frumoase se obțin cu soluția Giemsa, care colorează bine în sînge atît parazitul, cît și globulele roșii. Germenul poate fi pus în evidență și în secțiuni.

Cultivarea in vitro. *Sp. gallinarum* se cultivă pe medii inerte. Levaditi (1906) obține primul multiplicarea spirochetei într-un mediu compus din agar glucozat, ser de găină, care după însămînțarea cu sîngele virulent era pus în saci de colodiu și aceștia erau apoi introduși în cavitatea peritoneală a iepurelui.

Galloway (1925) cultivă spirocheta pe un mediu similar cu cel folosit de Ungermann și observă că adăugînd mediului o picătură de sînge de om, iepure sau maimuță, el devine și mai favorabil cultivării spirochetelor. Temperatura optimă o găsește de 30—32°C. După Marchoux și Chorine (1933), care dau și alte date importante cu privire la menținerea tulpinilor și la proprietățile lor, pH-ul optim este 7,2 — 7,5 ; ei obțin cultivarea germenilor de la argașii infestanți. Ungermann (1916 — 1928) cultivă germenul în ser inactivat de cal, iepure sau găină, la care adaugă porțiuni de albuș de ou fiert. Mediul se acoperă cu un strat de ulei de parafină și după însămînțare se incubează la 30—37°C. Chorine (1942) obține culturi într-un mediu compus din ser de iepure neîncălzit (1 volum), apă peptonată 5% (5 volume) și puțin sînge lacat. Mediul se acoperă cu un strat de ulei de parafină. Mai tîrziu Lwoff și Chorine înlocuiesc în acest mediu sîngele lacat cu acidul ascorbic (1/12 000 diluție în mediu), constatînd că în aceste condiții spirochetele se multiplică și în absența stratului superior de ulei de parafină.

Schaefer (1939) cultivă spirochetele în embrionul de găină : însămînțarea se face pe membrana corio-alantoidiană a embrionilor în vîrstă de 10—12 zile ; embrionii se sacrifică după 4—5 zile și cu sîngele recoltat de la ei se fac pasagii pe alți embrioni.

Rezistență. *Sp. gallinarum* dispare repede din organism după moartea păsărilor bolnave. Rareori poate fi găsită după 2—3 zile în cadavrele păsărilor moarte de spirochetoză.

La ghețar, în sîngele defibrinat, recoltat de la păsările bolnave, se conservă pînă la 2 luni.

INFECȚIA

Infecția experimentală se poate realiza, la păsările receptive (găina, rață, gîscă, porumbel, canar), prin administrarea parenterală sau per os a materialului virulent, sînge recoltat de la păsări bolnave în perioada de invazie. După Cantacuzino (1899), gîsca și rața sînt mai sensibile decît găina, care nu face decît rar o infecție mortală.

Puii de găină, de 1—4 săptămîni, după același autor, fac constant o infecție mortală în urma administrării subcutane a unei cantități mici de sînge virulent — 0,05 ml. Perioada de incubație la pui este în medie de 3 zile ; după acest interval, spirochetele apar în sînge, unde se multiplică considerabil, puii murind, de obicei, după 24 de ore, cu o marcată hipoleucocitoză (în special hipogranulocitoză) și un număr enorm de germeni în vase. Sîngele recoltat îndată după moarte conține încă numeroși paraziți, care, așa cum observă Cantacuzino, nu întîrzie să se aglutineze, să constituie grămezi, în care se lizează. Un mare număr de spirochete se găsesc în măduva oaselor și mai ales în splină ; aici ei pot fi liberi sau incluși în citoplasma macrofagelor, dar niciodată în citoplasma polinuclearelor.

La gîștele adulte, infecția experimentală are o evoluție, în linii generale, asemănătoare. Perioada de incubație după inocularea subcutană de

0,2—0,3 ml de sînge virulent este în medie de 3 zile. Spirochetele apar în sînge în a treia zi și numărul lor crește, atingînd după 2 zile concentrații enorme. Apoi, concentrația maximă fiind atinsă, numărul spirochetelor începe să se reducă și după alte 2 zile dispar total din sînge. În acest moment mai pot fi încă găsiți în sîngele papilelor vasculare ale foliculelor penelor de la aripă (Cantacuzino). Inceputul lizei spirochetelor în sînge este însoțit de agravarea tulburărilor generale. Animalul nu mai mănîncă, se deplasează cu greutate, are diaree și, de regulă, 48 de ore după dispariția spirochetelor din sînge moare. Procentul de mortalitate este de 80—90%.

Temperatura corporală, în cursul infecției evoluează în modul următor: începe să crească după 12 ore de la inoculare, atinge punctul maxim (42,5—43°C) o dată cu concentrația maximă a parazitemiei, ajungînd în momentul morții la normal sau scăzînd chiar cu 1—2°C sub normal. Pasărea moare, de obicei în hipotermie. Defervescența nu este deci bruscă, ci se face în lysis. Numărul de leucocite, în special numărul polinuclearelor, crește în tot cursul infecției atinge punctul maxim o dată cu apariția spirochetelor în sînge și revine la normal cînd acestea dispar din sînge. În lysis Cantacuzino remarcă dispariția totală a eozinofilelor din sînge.

La găinile adulte, simptomatologia este aceeași ca și la gîștele adulte. Temperatura atinge punctul cel mai înalt (43—43,5°C) la 3 zile după infecție, cînd se instalează tulburările generale, și paraziții apar în sînge. Simptomele constau în somnolență, anorexie, mers dificil, anemie (creasta și bărbiile palide), diaree cu materii fecale ușor verzui etc. Numărul elementelor albe din sînge crește cu regularitate, în general, dublîndu-se față de normal (Carabașiu, 1935). In cursul bolii se observă o tendință mai curînd spre hiperglicemie, decît către hipoglicemie (Zotta și Radacovici. 1930).

Gîștile și găinile adulte mor după ce spirochetele au dispărut din sînge, în timp ce puii de găină și bobocii de gîscă mor în momentul cînd sîngele este invadat masiv de germeni.

Spirochaeta anserina este nepatogenă pentru mamifere. Levaditi (1904) și Levaditi și Lange (1905) constată că iepurii inoculați pe cale intraperitoneală, cu sînge de pasăre bogat în germeni, fac o septicemie, care nu alterează însă starea generală a animalului. Animalele se vindecă spontan și infecția nu poate fi transmisă în serie.

Infecția naturală

Specii receptive. Infecția este întîlnită la găini, gîște și rațe.

Mod de transmitere. Transmiterea spirochetei de la pasărea bolnavă la pasărea sănătoasă se face printr-o gazdă intermediară, deși nu este exclusă și transmiterea directă prin ingestia materialului infectat, sau prin leziuni cutanate. Agenții transmițători sînt artropodele (căpușe) și fac parte din familia *Argasidae*. Speciile de *Argasidae* care pot transmite infecția sînt: *Argas persicus, A. reflexus, A. miniatus, Ornithodorus moubata.*

Dermanyssus gallinae ar putea transmite, după unii autori, mecanic boala. Cernăianu, (1923) a constatat că găinile dintr-un focar de spirochetoză erau intens parazitate de *Dermanyssus avium* (Derges), dar că încercările sale de a transmite boala prin aceste căpușe nu au reușit. In același focar a găsit însă constant exemplare de *Menogon trigonocephalum* și admite că transmiterea prin acest păduche nu poate fi exclusă, raliindu-se astfel opiniei exprimate de Balfour. Celan și Peltechi (1953) afirmă, că și ei au găsit această căpușă pe corpul unor păsări bolnave de spirochetoză.

Argașii se hrănesc cu singe și se găsesc printre lemnele, și mai ales în crăpăturile lemnelor, din adăpostul păsărilor, unde pot trăi, fără hrană, luni de zile. In cazul cînd ajung să sugă sîngele unei păsări infectate, spirochetele ajung o dată cu sîngele în tubul digestiv al căpușei. De aici dispar după 3—4 zile, pentru a apare 2 săptămîni mai tîrziu în glandele salivare. De aici înainte glanda este infectantă și boala se transmite tuturor păsărilor pe care căpușa le înțeapă, pentru a se hrăni. Argașii transmit spirochetele prin ou generațiilor următoare. Argașii sînt căpușe nocturne : ei sug sîngele în timpul nopții, iar ziua stau ascunși în crăpăturile din lemn și nu pot fi găsiți pe păsări. Larvele lor trăiesc însă tot timpul pe pasăre, înfundîndu-se adînc în derm, unde pot fi găsite.

Arie geografică. Boala, după cum s-a arătat mai sus, a avut o răspîndire cvasi universală. Prin schimbarea condițiilor de exploatare a păsărilor, și, în special, prin înlocuirea coteţelor primitive de lemn prin coteţe de zid, prin aplicarea măsurilor de igienă, boala și-a restrîns foarte mult aria și și-a redus simțitor răspîndirea. Ca o consecință a dispariției agentului transmițător, cazurile de spirochetoză, care în trecut erau frecvente în țara noastră, sînt acum o raritate. Situația pare a fi aceeași și în alte țări.

Simptome. Paraziții introduși de gazdele intermediare în țesuturi se localizează în ficat, splină și măduva osoasă unde se multiplică. De aici ei trec în sînge, unde găsesc de asemenea condiții favorabile de multiplicare. Tulburările clinice devin vizibile cînd numărul paraziților în sînge a atins o densitate mare, adică la 3—10 zile după infecție. Tulburările constau din febră, somnolență, apatie, diaree, parezii ale aripilor sau picioarelor. Pasărea bolnavă stă retrasă, cu ochii închiși, cu aripile lăsate și penele zbîrlite. Creasta și bărbiile sînt anemice, ca o consecință a distrugerii hematiilor de către toxinele spirochetei. In evoluția bolii, Cernăianu (1923) distinge trei stadii, și anume :

1. Un prim stadiu, care durează de obicei 2 zile, și care se traduce prin febră, indispoziție, dificultate în deplasare, paloarea crestei și bărbiilor, diaree incipientă.

2. Un al doilea stadiu, care durează aproximativ 1—2 zile și se traduce printr-o somnolență accentuată, parezii urmate de paralizii ale membrelor, diaree verzuie spumoasă, dureri articulare.

3. In al treilea stadiu se accentuează simptomele din stadiul al doilea. Pasărea are membrele paralizate, aripile sînt întinse și inerte, deplasarea devine imposibilă. Capul, din cauza paraliziei mușchilor gîtului, cade de o parte. Animalul stă culcat în decubit lateral, ca o masă inertă. Această stare durează 24 de ore și se sfîrșește cu moartea, care este precedată uneori de convulsii.

Se disting, din punct de vedere clinic, trei forme: supraacută, acută și cronică. Forma supraacută durează cîteva ore și pasărea moare cu simptome și leziuni de septicemie. In formele acute, boala durează 2—5 zile și prezintă o simptomatologie caracteristică. In formele cronice sau subacute, semnele bolii sînt mai șterse și animalul moare adeseori cașectic, după 10—15 zile de boală.

Modificări anatomice. In formele cu o evoluție rapidă, 6 zile, predomină leziunile congestive ale organelor interne — ficat, splină, rinichi. In formele cronice se găsesc leziuni necrotice întinse în splină și ficat. Splina este mult mărită, ea putînd atinge, la găină, mărimea unui ou de porumbel; pe suprafața sa se găsesc întinse focare necrotice. Ficatul prezintă și el zone necrotice punctiforme sau în plăci. Rinichii sînt degenerați. Mucoasa intestinală este inflamată, hemoragică.

Diagnosticul, în timpul vieții, se sprijină pe examenul clinic, pe date epizootologice și mai cu seamă pe examenul sîngelui, care se face fie direct între lamă și lamelă, fie după colorație cu soluții de albastru de metilen, fucsină sau după metoda Giemsa. Prezența parazitului confirmă diagnosticul, dar absența sa nu-l infirmă. Spirochetele, în cursul evoluției bolii, se pot într-adevăr liza, dispărînd astfel din sînge.

După moarte, dignosticul se pune pe baza modificărilor anatomice și a examenului bacteriologic, care permit eliminarea unor bacterioze — holeră, tifoză — cu tablou anatomo-patologic, asemănător. Spirochetele sînt de regulă absente. Le putem găsi uneori în cadavrele păsărilor moarte de spirochetoză, în preparatele cu tuș, făcute din măduva oaselor, sau din alte țesuturi, sînge, splină.

Profilaxia trebuie să urmărească, în primul rînd, înlăturarea din adăposturi a gazdei intermediare. Aceasta se poate realiza prin mijloacele obișnuite — curățenie mecanică, dezinsecție.

Imunizarea păsărilor a fost încercată. Marchoux și Salimbeni preconizează pentru imunizare următorul procedeu: injectarea păsărilor cu sînge virulent și tratarea cu un produs chimic în momentul apariției septicemiei. Metoda este desigur greoaie, ea necesitînd repetate examene microscopice la fiecare pasăre. S-a încercat, de asemenea imunizări cu produse virulente, inactivate prin căldură, formol, acid fenic. Gowie (1950) a preparat un vaccin cu material virulent obținut de la embrionii de găină infectați experimental. Produsul era inactivat prin formol. S-a încercat de asemenea și seroinfecția.

Tratament. Produsele arsenicale (atoxil, neosalvarsan, stovarsol sau spirocid) s-au dovedit eficace, ele asigurînd cu regularitate vindecarea păsărilor bolnave. Medicamentele se pot administra parenteral sau per os. Dozele folosite pentru găini sînt următoarele:

Neosalvarsan 0,01 — 0,015 g pe 1 kg intramuscular. Cernăianu (1923) socotește această doză prea mică și recomandă doze ceva mai mari, 0,0375 g pe kilocorp. O singură inoculare produce vindecarea.

Spirocid 0,12 g pentru pui, 0,25 g pentru găini și rațe, 0,50 g pentru gîște; doza se poate repeta după 24 de ore; administrare bucală.

Atoxil 0,05 g pentru găină, 0,3 — 0,4 g pentru gîscă.

Spirocidul, care este un derivat al acidului fenilarsenic, administrat per os, la păsări sănătoase, le pune la adăpost de infecţie pentru 14—15 zile (Cernea, 1932, Carabaşiu, 1935).

Vindecarea păsărilor bolnave, în urma tratamentului arsenical, se obţine după 1—3 zile. Păsările tratate în primul stadiu de boală revin la normal în primele 24 de ore. Cele tratate în ultimul stadiu se vindecă mai încet, 2—3 zile (Cernăianu, 1923).

Penicilina este activă. Doza terapeutică este de 10 000 — 20 000 U.I. într-o singură administrare. Celan şi Peltechi (1953) obţin rezultate pozitive folosind pentru tratamentul păsărilor bolnave doze care au variat de la 2 000 la 10 000 U.I. O singură administrare produce de regulă vindecarea.

S-au mai încercat şi alte produse. Nicolau şi colaboratorii (1925) folosesc acetiloxiaminofenilarsinatul de bismut, cu rezultate bune. Doza activă este de 0,5—1 ml pe kilocorp dintr-o suspensie uleioasă care conţine 0,041 g de bismut şi 0,015 arsenic pe 1 ml. Cecalov (1929) obţine vindecarea păsărilor bolnave cu albastru de metil. Doza folosită a fost de 0,1 — 0,15 g pe kilocorp.

BIBLIOGRAFIE

CANTACUZINO I. — Cercetări asupra spirilozei gîştelor. *Ann. Inst Pasteur,* 1899, 13, p. 529.

CARABAŞIU EMIL — Tratamentul spirochetozei aviare cu spirocid. *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1935.

CECALOV S. — Tratamentul spirilozei la gîşte, raţe şi găini prin albastru de metil *Teză la Facultatea de medicină veterinară,* Bucureşti, 1929.

CELAN B. şi PELTECHI M. — Tratamentul spirochetozei păsărilor cu penicilină. *Probleme zootehnice şi Veterinare,* 1953, 12, p. 55.

CERNĂIANU C. — Despre o epizootie de spirochetoză la găini. Acţiunea preventivă şi curativă a neosalvarsanului. *Arhiva veterinară,* 1923, 17, p. 80.

CERNEA I. — Tratamentul spirochetozei aviare cu spirocid. *Arhiva veterinară,* 1932, 24, p. 18.

GABRITSCHEWSKY — Contribuţii la patologia şi seroterapia infecţiilor spirochetice (o serie de note). *Zbl. f. Bakt.,* 1898, 23, şi *Arch. Russ. de Path.,* 1898, 5.

GALLOWAY A. I. — Cultivarea în vitro a speciilor Spirochaeta duttoni şi Spirochaeta gallinarum. *C. R. Soc. Biol.,* 1925, 93, p. 1074.

GARAITŞNOV — Un caz de spiriloza păsărilor în Bulgaria. *Vet. Sbirska,* 1907.

LEVADITI C. — Contribuţii la studiul spirilozei găinilor. *Ann. Inst. Pasteur,* 1904, 18, p. 129.

LEVADITI C. şi LANGE — *C. R. Soc. Biol.,* 1905, p. 843.

LEVADITI C. — Cultivarea spirochetei gallinarum. *C. R. Soc Biol.,* 1906, 60, p. 688.

MARCHOUX E. şi CHORINE V. — Cultivarea spirochetei găinilor. Virus vizibil şi invizibil. *Ann. Inst. Pasteur,* 1933, 51, p. 477.

MEZINCESCU şi CALINESCU — Spiriloza găinilor şi Argas persicus în Romînia. *Bull. Soc. Path. Exot.,* 1909, 2.

NICOLAU S., DOSKOCIL A., GALLOWAY I. — Acțiunea acetiloxyaminophenilarsinatului bazic în nagana experimentală și în spiriloza găinilor. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 580.

SACHAROFF N. — Spirocheta anserina și septicemia gîștelor. *Ann. Inst. Pasteur*, 1891, 5, p. 564.

UNGERMANN — *Arbeit a. d. Reichsgesundheitsamt.*, 1916, p. 52 și 1918, p. 114.

ZOTTA G. și RADACOVICI E. — Studiul glicemiei în spirochetoza galinaceelor. *Arch. Roum. Path. Expér.*, 1930, 3, p. 325.

Genul *Treponema* Schaudinn, 1905

Treponema pallidum (Schaudin și Hoffman) Schaudin, 1905

Morfologie. Microorganism spiralat, cu vîrfuri subțiate. Lungimea de la 3 la 18 microni. Regulat ondulat; amplitudinea unei spirale este de 1 micron.

Microscopia electronică a pus în evidență cili terminali la ambele capete.

Nu se vede în cîmp întunecat, ci numai la ultra microscop. Mobil.

Se colorează greu. Cu metoda Giemsa, colorație palidă în violaceu. Se utilizează alături de metoda Burri, împregnarea cu nitrat de argint după Fontana-Tribondeau. În secțiuni impregnare argentică.

Cultivare. Nu a putut încă fi cultivat prin nici una din metodele cunoscute azi.

Patogenitate. În condiții naturale este patogen pentru om, la care produce sifilisul, boală ce se transmite, de regulă, pe cale sexuală. Experimental, *Treponema pallidum* poate produce infecții la maimuțele antropoide, iepure și șoarece.

Diagnosticul de laborator al infecției umane se face prin examenul microscopic al leziunilor primare și secundare (ultra-microscopie, Fontana-Tribondeau, Burri, Giemsa) și examen serologic, fixarea complementului și reacția de floculare: citochol, Meinicke, Kahn etc.

Tratamentul cu bune rezultate se face cu săruri de arsenic (neosalvarsan și succedanee), bismut, mercur, precum și cu penicilină în doze mari — 9 000 000 U.I. sau mai mult.

Genul *Leptospira* Noguchi, 1917

Spirochetele din acest gen se caracterizează prin mica amplitudine a spiralelor și prin aceea că la ambele capete au cîte un cîrlig, care reprezintă 1/8—1/10 din lungimea celulei. Se văd bine în cîmp întunecat, dar nu se văd în cîmpul microscopic luminat. Nu se colorează cu coloranții obișnuiți. Se pun în evidență prin colorația după metoda Giemsa sau prin metoda de impregnare argentică. Se cultivă pe medii lichide simple, normal oxigenate, fiind aerobe.

În acest gen sînt incluse o serie de specii, fără a se putea încă cu precizie stabili relațiile dintre ele. Unele din aceste specii sînt saprofite, constituind așa-numita grupă a leptospirelor de apă sau acvicole, altele sînt patogene pentru om și animale, formînd grupa speciilor patogene.

Specia tip pentru grupa leptospirelor acvicole este *L. biflexa,* iar pentru grupa celor patogene este *L. icterohaemorrhagiae.*

Leptospirele patogene sînt împărțite de Gsell (1953) în trei subgrupe, după caracterul infecției produse la om, și anume:

1. Subgrupa leptospirelor care produc infecții icterice:

L. icterohaemorrhagiae sau L. icterogenes
L. bovis

2. Subgrupa leptospirelor care produc infecții icterice sau anicterice:

L. bataviae
L. autmnalis sau L. akijami
L. pyrogenes
L. andaman A.
L. australis A.

3. Subgrupa leptospirelor care produc infecții benigne, de regulă, anicterice:

L. grippo-typhosa
L. hebdomadis
L. sejröe
L. saxkoebing
L. pomona
L. mitis
L. canicola
L. DW. A.
L. DW. W.

Diferențele între diversele specii patogene de leptospire se referă la structura antigenică; speciile nu sînt însă total distincte nici din acest punct de vedere și se constată că un ser preparat cu o specie aglutinează nu numai tulpina speciei folosite la prepararea sa, dar la un titru mai mic, și tulpinile altor specii. Rezultă de aici că diversele specii au antigeni comuni, dar așa cum s-a dovedit prin metoda adsorbției aglutininelor a lui Castellani, au și antigeni proprii. Această constatare a făcut pe unii autori (Uhlenhuth și alții) să propună ca toate leptospirele să constituie o singură specie, în cadrul căreia să se creeze mai multe variante, ținînd seama de structura antigenică. Această teorie unitară a fost părăsită, prevalînd teoria pluralității speciilor de leptospire. S-a procedat, în acest caz, ca și în diferențierea speciilor din genul *Salmonella.* În afară de deosebirile de ordin serologic și de cele care țin de specia sau speciile animale pe care le parazitează mai frecvent, nu s-au putut pune în evidență și alte diferențe. Pentru aceste motive caracterele morfologice, culturale etc. le vom expune pentru întregul gen și nu pentru fiecare specie în parte. Deosebiri de ordin morfologic, cultural și biologic nu pot fi găsite nici între leptospirele saprofite și cele patogene, așa cum reiese, în special, din cercetările lui Babudieri asupra morfologiei leptospirelor (imagini electronice).

Descoperirea leptospirozelor și leptospirelor. Weil (1886) și, concomitent, Vasiliev, au identificat primii, clinic, infecția leptospirotică la om, deși în lumina cunoștințelor actuale, boala poate fi recunoscută și în descrieri mai vechi. Agentul etiologic al bolii lui Weil-Vasiliev a rămas relativ mult timp neidentificat. Aproape 30 de ani mai tîrziu, în 1915, Inada şi Ido, în Japonia, reuşesc, întîi să transmită infecţia de la om la cobai, apoi de la cobai să izoleze şi să cultive o spirochetă pe care o numesc *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. Concomitent, prin cercetările făcute în Germania asupra bolii de tranşee (apărută pe frontul franco-german în 1914—1918), Uhlenhuth şi Fromme pe de o parte, şi Hübener şi Reiter pe de altă parte, ajung la acelaşi rezultat, izolînd în 1917 acelaşi germen, pe care autorii îl numesc respectiv *Sp. icterogenes* şi *Sp. nodosa*. Ei descriu morfologia acestui germen şi îi fixează poziţia în sistematica microbiană, în raport cu celelalte spirochete cunoscute.

După aceste prime cercetări au urmat altele care au dus la descoperirea altor boli şi a altor specii de leptospire. Astfel, în 1916—1917, Ido şi colaboratorii descoperă specia *L. hebdomadis*, agentul febrei de 7 zile din Japonia, Kitamura şi Ara (1918), *L. autumnalis*, agentul febrei de toamnă din Japonia, Vervoort (1922), *L. pyrogenes* sau *L. australis* B. (tulpina Zanoni), agentul leptospirozei febrile de Sumatra, Walch (1925) *L. bataviae*, agentul febrei (bolii lui Weil) de Batavia, Tarassov (1928), *L. grippo-typhosa* agentul febrei de cîmpie sau de apă (Schlammfieber = febra de nămol) din Europa centrală şi Europa orientală, Taylor şi Goyle (1931), *L. andaman* A, agentul febrei de Andaman, Klarenbeck şi Schüffner (1933), *L. canicola*, agentul tifosului canin, boală transmisibilă la om, Morissey şi Leckie (1933), *L. australis* A. agentul febrei de Ingham, Clayton şi colaboratorii (1937) *L. pomona* agentul letospirozei porcilor, boală transmisibilă de asemenea la om, aşanumita boală a porcarilor, fiind o leptospiroză (Gsell şi Rimpau, 1944) şi nu o viroză, Tarassof şi Kiktenko (1937) L. DW-A, agentul febrei de cîmpie umane, Borg Petersen (1938) *L. sejröe*, agentul leptospirozei de Sejröe, Johnson (1940) *L. mitis* (specie apropiată de *L. pomona*), agentul unei leptospiroze la porci, boală transmisibilă de asemenea la om, Bernkopf şi Benkopf şi Olitski (1946), în Palestina, *L. bovis* agentul leptosiprozei bovine, identică cu *L. icterohaemoglobinuriae bovis* descoperită încă din 1935 de Michin în U.R.S.S. şi izolată de Terskih (1942) şi Semskov (1941), Nikolaiev (1939) L. DW-W agentul leptospirozei vulpilor argintii etc.

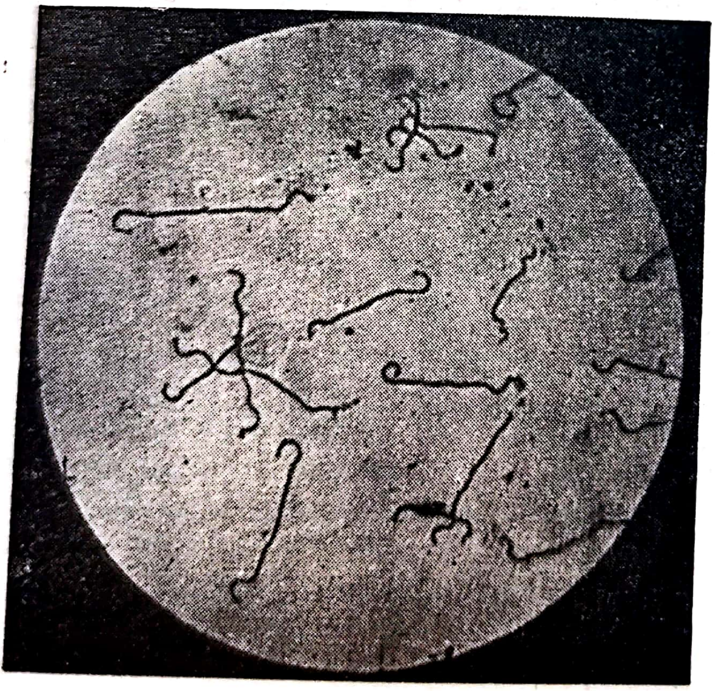


Fig. 141 — Leptospira icterohaemorrhagiae (după Martin, Petit şi Vandremer din Austoni)
Frotiu colorat cu aluminat de argint

La noi în țară, cercetări sistematice asupra leptospirozelor și leptospirelor au fost inițiate de Combiescu, stabilindu-se multiplicitatea infecției la om și animale. Prima tulpină a fost izolată de la un șobolan (tulpina 396) de Combiescu și colaboratorii și aparținea speciei *L. pomona*. Cu ocazia cercetării unui focar de leptospiroză la viței, Leluțiu izolează o a doua tulpină de leptospiră — tulpina Perșinari — identică cu 396, iar Surdan și colaboratorii descriu aspectul clinic și epizootologic al infecției. Cercetări făcute de Combiescu și col., (1951—1955), Surdan și col. (1955), Volintir (1954), Stamatin și col. (1955), Topciu, Gluhovschi și col. (1955). Leluțiu (1953), Tudoriu și col. (1956), Bercea (1956) și alții, au pus în evidență, în special prin anchete serologice, extensiunea leptospirozei la animalele și oamenii din țara noastră.

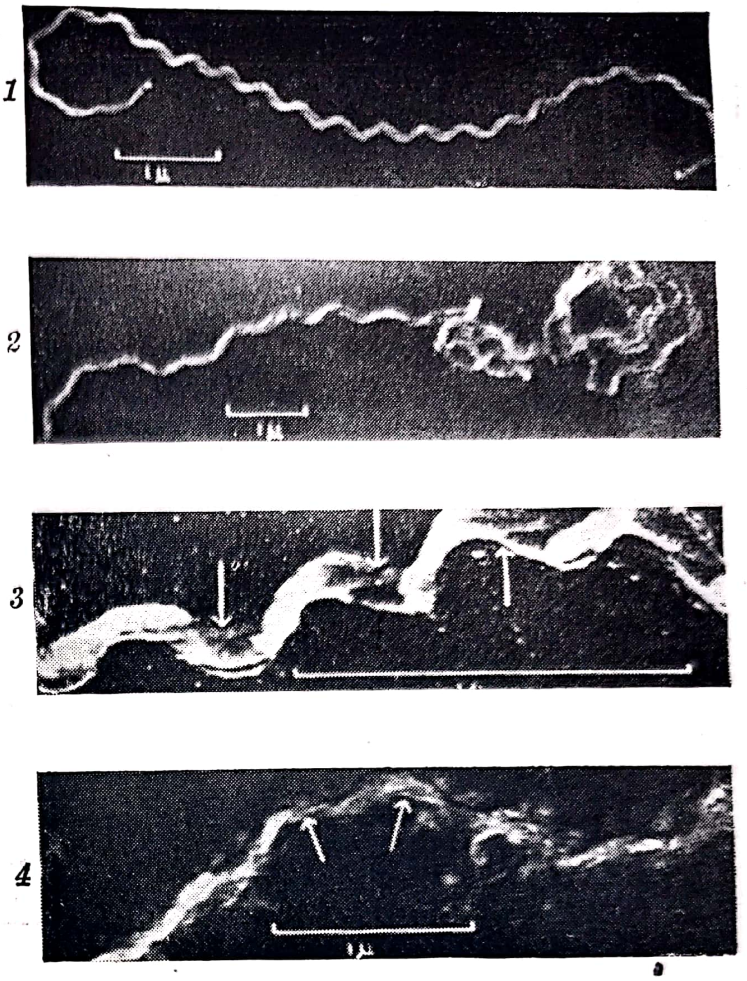


Fig. 142 — Leptospira icterohaemorrhagiae (după Swain, 1955)

1 — cultură de 5 zile; x 17 000; 2 — cultură similară arătînd o spirochetă închistată; x 13 000; 3 — cultură similară arătînd un filament central axial înăuntrul peretelui celulei (marcat prin săgeți); x 68 000; 4 — cultură de 5 zile după 30 de minute de digestie triptică. Săgețile arată filamentul axial printre protoplasma leptospirei parțial digerată; x 33 000

Caractere morfologice. *Formă.* Letospirele sînt microorganisme filamentoase; filamentul este, regulat ondulat, spiralat. Filamentul spiralat poate fi în totalitatea sa ușor încurbat, avînd atunci aspectul literelor C sau S. Amplitudinea spirelor este mică; o leptospiră lungă de 9 microni reprezintă, în medie, 18 spire. Filamentul se termină la ambele capete, de regulă, cu un cîrlig, ceea ce este caracteristic și distinge leptospirele de alte spirochete. Numeroși cercetători au constatat filtrabilitatea germenilor prin filtrul Chamberland, Seitz și Berkefeld. Filtrabilitatea, după Austoni (1953), nu este datorită existenței unor alte forme decît cele filamentoase, ci diametrului transversal redus al formelor vizibile.

In ceea ce privește structura morfologică fină, numeroși autori afirmă că în corpul celular se poate distinge un cilindru citoplasmatic, care măsoară aproximativ 620A° în secțiunea transversală, înconjurat de un fila-

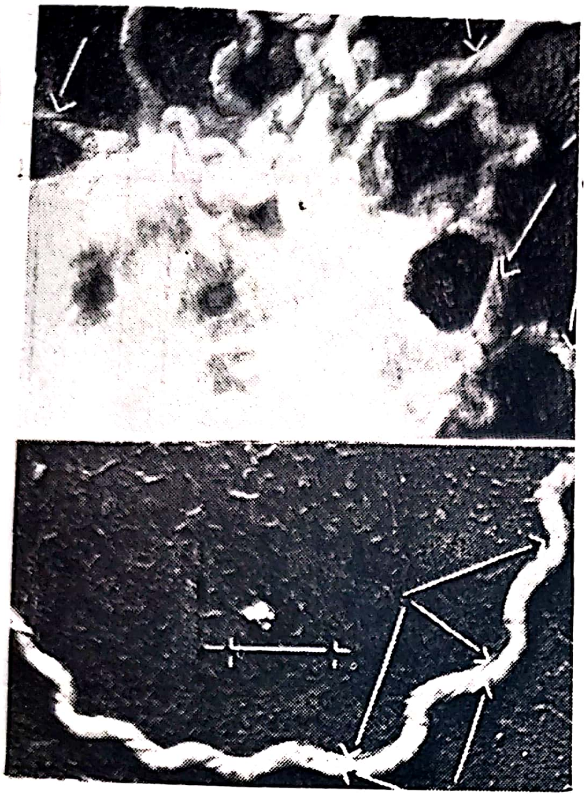


Fig. 143 — Leptospira icterohaemorrhagiae (după Czekalowski și Eaves, 1955)

sus — tulpina Wijnberg; × 40 000. Se observă mase de leptospire, săgețile indică axistilul; *jos* — tulpina Lisboa; × 75 000. Se observă cilindrul protoplasmei înconjurat de axistil

ment mai fin, avînd o oarecare rigiditate, măsurînd, în secțiune transversală, aproximativ 220Å° și fiind cunoscut sub numele de stil axial sau axistil. Axistilul este în afara membranei celulare, pe deasupra celulei; el se termină la ambele capete cu o umflătură, care poate fi comparată cu un blefaroplast și care pătrunde în interiorul celulei, la capetele ei (vezi imaginea electronică, după Czekalowski și Eaves, 1955). Dezintegrînd leptospira cu dezoxicolat de sodiu. Czekalowski și Eaves separă axistilul de celulă, obținînd imaginea sa electronică. Autorii, referindu-se la funcțiunile axistilului, afirmă că el este coloana vertebrală a spirochetei. El îi conferă rigiditatea formei, prin contractibilitatea sa, îi asigură mobilitatea (Swain, 1955). Letospirele nu au cili. Cu toate acestea sînt mobile, prezentînd mișcări de flexiune, rotație și translație. Mecanismul mobilității este încă necunoscut.

Leptospirele se multiplică prin diviziune transversală; filamentul, cînd a atins o anumită lungime, se strangulează luînd astfel naștere două celule-fiice. Timpul care separă două diviziuni este de cel puțin 5 minute, cel mult 1 oră. Viteza de multiplicare este deci importantă, putînd depăși pe cea a bacteriilor.

Dimensiuni. Lungimea leptospirelor variază în limite largi și anume de la 5 la 40 microni. În anumite medii (medii cu ser de măgar, de exemplu, Zuelzer) se pot întîlni forme foarte lungi, 100 microni sau mai mult. Diametrul tranversal este ceva mai mare de 0,1 microni, dar nu pare a depăși 0,12 microni.

Metode de examinare și colorare. Observația leptospirelor nu se poate face decît recurcînd la metoda specială de examinare, și anume: 1) examenul direct în cîmp întunecat; 2) examenul după culoare cu metode speciale.

Examen direct. Leptospirele vii, în picătură sau între lamă și lamelă, nu pot fi văzute la microscopul obișnuit decît dacă se recurge la examenul în cîmp întunecat. La microscopul prevăzut cu un condesator obișnuit, ele sînt invizibile, chiar dacă se închide complet diafragma. Invizibilitatea lor în cîmpul microscopic luminat nu are încă o explicație acceptabilă.

Deci, examenul direct se face folosind un condensator cardioid, în locul condensatorului Abbé. Pe lentila cardioidului se pune o picătură de ulei de cedru (în lipsă glicerină) și apoi se așază lama, astfel ca între ea și lentila cardioidului să existe un strat continuu de ulei de cedru. Pe suprafața lamei se găsește material de examinat, o picătură de lichid, acoperită sau neacoperită cu o lamelă. Picătura se acoperă cu lamela atunci cînd se intenționează a se face un examen cu un obiectiv mai puternic: 40 sau imersie, pentru a îndepărta pericolul introducerii obiectivului în materialul virulent. Pentru obiective mici, lamela poate deci lipsi.

În cîmp întunecat, leptospirele au un aspect caracteristic, de bandă metalică subțire, strălucitoare, fin spiralată, cu capetele întoarse în cîrlig. Ele au o mobilitate vie în cîmpul microscopic și sînt ușor de recunoscut. Tot examenul direct, în cîmp întunecat, permite demonstrarea activității aglutinante și litică a anticorpilor serici sau a unor produse chimice.

Examen după colorare. Leptospirele din culturi, din mediile naturale sau țesuturile animalelor infectate, pot fi puse în evidență prin diverse metode de colorare.

Pentru colorarea leptospirelor din culturi și în general din medii lichide, se folosesc numeroase metode dintre care vom da pe cele mai uzuale.

Colorația după metoda May Grünwald-Giemsa

Frotiurile nefixate, sau fixate 2—3 minute în vapori de acid osmic, se acoperă, pentru 3 minute, cu soluția May Grünwald nediluată; se adaugă apoi cîteva picături de apă distilată și se lasă încă 1—2 minute. Soluția se îndepărtează fără spălare și lama se colorează 24 de ore cu soluție Giemsa (1 picătură de soluție Giemsa pentru 1 ml de apă distilată ușor alcalinizată cu bicarbonat de sodiu; urmează spălare cu apă de robinet, uscare, examinare).

Colorația după Schüffner

1. Se face un frotiu subțire din cultură.
2. Uscare la aer fără fixare.
3. Se trece lama într-o soluție de colorant Giemsa, timp de 1 oră la 37°C.
4. Se spală la robinet.
5. Se colorează încă o dată cu Giemsa soluție de aceeași concentrație — 30 de minute la 37°C.
6. Se spală cu apă de robinet și se usucă în poziție verticală la adăpost de praf.

Leptospirele se colorează în violet și au spirele bine vizibile.

Impregnația argentică Fontana-Tribondeau

1. Frotiul uscat se fixează 30 de secunde în lichidul lui Ruge:

formalină	2 ml
acid acetic glacial	1 ml
apă distilată	100 ml

Fixarea se repetă de 2—3 ori.

2. Se spală cu alcool absolut; (în lipsă 96°), ultimele picături de alcool de pe lamă se ard.
3. Se acoperă lama cu mordant:

acid tanic	5 g
fenol	1 g
apă distilată	100 g

Se încălzeşte uşor la flacără pînă la apariţia de vapori.

4. Se spală preparatul cu apă de robinet, apoi, cu grijă, cu apă distilată.

5. Se tratează cu soluţie argentică Fontana: preparatul acoperit cu sol. de nitrat de Ag se încălzeşte la flacăra mică a veilleusei pînă la apariţia vaporilor de apă (20—30 de secunde) şi pînă ce frotiul ia un aspect metalic brun-maro. Impregnarea cu soluţia Fontana se poate repeta de 2—3 ori pentru a obţine imagini mai nete.

6. Spălare cu apă distilată, uscare, examinare.

Prepararea nitratului de Ag—amoniacal Fontana: la o soluţie 5% de nitrat de argint chimic pur se adaugă picătură cu picătură soluţie concentrată de amoniac. Se formează un precipitat brun, din ce în ce mai dens. Se continuă cu grijă adăugarea de amoniac pînă ce precipitatul iniţial format se dizolvă şi amestecul devine limpede. Se revine cu soluţia de nitrat de argint adăugînd din nou, iar picătură cu picătură din soluţia de nitrat 5% pînă ce obţine o soluţie uşor opalescentă. În acest moment se opreşte adăugarea de nitrat de argint. Soluţia astfel preparată se poate păstra cîteva (1—2) luni, cu tot precipitatul fin, ce se depune la fund cu timpul.

Punerea în evidenţă a leptospirelor în ţesuturi prin metoda Levaditi.

1. Fixarea pieselor de dimensiuni cît mai reduse în formol 10%, timp de 24 de ore sau mai mult.

2. Spălare cu apă de robinet 24 de ore.

3. Piesele se trec apoi în alcool de 96% timp de 24 de ore, în care timp alcoolul se schimbă o dată.

4. Spălare în apă distilată pînă ce piesele cad la fund.

5. Impregnare într-o soluţie apoasă 1,5—3% de azotat de argint la 37°C, timp de 3—6 zile.

6. Spălare scurtă în apă distilată (5—15 minute).

7. Reducere în amestecul următor:

acid pirogalic	5 g
formol 40%	2—4 ml
apă distilată	100 ml

8. Spălare cu apă distilată. includerea în parafină. Impregnarea se face la adăpost de lumină în sticlă brună.

Secţiuni de 5—7 microni; primele secţiuni sînt supraîmpregnate şi se elimină.

Metoda poate fi utilizată şi pentru material fixat în formol Müller. Rezultatele sînt bune.

Medii de cultură. Leptospirele se cultivă pe medii relativ simple. Mediul cel mai folosit este cel recomandat de Uhlenhuth şi care este format din apă de fîntînă şi ser de iepure.

Mediul Uhlenhuth

Apa de fîntînă, şi nu de robinet, se fierbe pînă ce volumul se reduce la jumătate. Se filtrează, şi se ajustează pH-ul la 7,2—7,4.

Se repartizează în cantităţi voite, în eprubete sau în baloane de 25,50 ml, potrivit scopului urmărit (menţinerea tulpinilor, culturi pentru examene serologice etc.). Se sterilizează 20 de minute la 120°C. Se adaugă apoi, în fiecare recipient ser proaspăt de iepure, în proporție de 3—10%. Inactivare 30 de minute la 56°C. Controlul sterilității înainte de însămînțare.

Mediul Vervoort modificat de Wolf

1. Se prepară 1 l de soluție 1/1 000, peptona Wite și se fierbe.

2. Se adaugă 200 ml de soluție Ringer (NaCl, 8,5 g; KCl, 0,2 g; $CaCl_2$, 0,2 g; CO_3NaH, 0,01 g; în 1 000 ml de apă distilată) și se fierbe a doua oară.

3. Se adaugă 100 ml de soluție Sörensen cu pH=7,2

28 ml de soluție PO_4H_2K (9,078 g la 1 l) și 72 ml de soluție PO_4Na_2H, (12,28 g la 1 l).

Se fierbe a treia oară.

4. Se adaugă 2 ml de soluție normală de acid fosforic.
5. Se fierbe amestecul 5 minute; se formează un precipitat.
6. Se răcește și se filtrează prin hîrtiie.
7. Soluția limpede se sterilizează 30 de minute la 100°C.
8. Se distribuie cîte 3—5 ml în tuburi.
9. Se sterilizează 30 de minute la 100°C.
10. Se adaugă în fiecare tub 0,3—0,5 ml de ser de iepure (fără anticorpi antileptospirici) cu urme de hemoglobină.
11. Se inactivează tuburile ½ oră la 56°C la baia de apă.
12. Se controlează sterilitatea (incubarea la 37°C).

Mediul Korthof modificat de Austoni

Peptonă Wite	0,8 g	Substanțele trebuie să fie chimic pure
ClNa	1,4 g	
CO_3NaH	0,02 g	
ClK	0,04 g	
Cl_2Ca	0,04 g	
PO_4H_2K (după Sörensen)	0,180 g	
$PO_4Na_2H.2H_2O$ (după Sörensen)	0,970 g	
Acid nicotinic	0,001 g	
Apă distilată	1 000 ml	

Se sterilizează 20 de minute la 100°C (oala lui Koch), se filtrează, se ajustează pH-ul la 7,2—7,3, se sterilizează din nou la 100°C 30 de minute, se adaugă ser de iepure recoltat steril și inactivat 3 zile consecutiv cîte 20 minute la 56°C. Controlul sterilității înainte de însămînțare.

Mediul Fletcher pentru hemoculturi

Apă sterilă de fîntînă	10 ml
Agar 2,5%	1 ml
Ser de iepure	1 ml

Mediul pus în eprubeta sterilă este însămînțat cu 0,5 ml de sînge suspect.

Oul embrionat de găină

Leptospirele se cultivă și în oul embrionat de găină, așa cum au arătat Morrow și colaboratorii (1938), Hallauer și Kuhn (1942) pentru *L. icterohaemorrhagiae.* Dezvoltarea culturii la 28°C aduce constant moartea embrionului și inconstant la 37°C. Wynohradnyk și colaboratorii (1956) au arătat că și alte tipuri ca *L. pomona, L. canicola, L. grippotyphosa* etc. se cultivă în oul embrionat de 11—14 zile. Culturile reușesc în special cînd ouăle însămînțate sînt incubate la temperatura de 28°C. Embrionii infectați și incubați la această temperatură mor canstant.

Lichidul alanto-amniotic al embrionilor morți în urma infecției conține numeroase leptospire.

Condiții de cultivare. Leptospirele sînt aerobe, pH-ul optim este = 7,2—7,4. Mediile lichide se repartizează aseptic în tuburi Wassermann, cîte 2—3 ml în fiecare tub, apoi se însămînțează cu materialul patologic sau se fac trecerile tulpinilor din laborator. Incubația se face la 28—30°C, temperatura optimă pentru toate leptospirele. La 37°C leptospirele degenerează repede. In bune condiții ele se multiplică și cultura atinge densitatea maximă după 5—7 zile. Prezența leptospirelor într-un număr destul de mare în mediu nu modifică transparența acestuia ; mediul rămîne tot așa de limpede ca și în momentul însămînțării. Dovada multiplicării lor și a gradului de multiplicare se face prin examen microscopic în cîmp întunecat.

Proprietăți biochimice. Unii cercetători au afirmat că leptospirele ar descompune unele substanțe hidrocarbonate ca galactoza, glucoza și l-arabinoza, dar nu ar avea nici o acțiune asupra d-arabinozei, xilozei și ramnozei. Aceste afirmații au fost contestate de alți cercetători. După Woland și Brede (1951), leptospirele ar produce hialuronidază.

Rezistența. Leptospirele sînt foarte fragile și se distrug repede în afara unui mediu favorabil. Chiar în mediile de cultură folosite pentru multiplicarea lor ele nu-și păstrază viabilitatea în mod practic, mai mult de 3 luni. Se citează cazuri de o mai lungă viabilitate, dar acestea sînt excepții. In sînge defibrinat se conservă la rece cel mult 7 zile, iar în ficat de cobai, tot la rece, 26 de zile (Austoni).

Temperaturile ridicate, ca și cele prea scăzute, le distrug repede. Astfel, ele mor în 30—60 de minute la 50—55°C ; în cîteva minute la 65°C, iar temperatura de —30°C o suportă pentru un scurt timp. Își mențin viabilitatea, un timp mai îndelungat, la 2°C.

În absența apei, pe suprafețe uscate, leptospirele mor într-un timp scurt.

Sînt foarte sensibile la modificările de pH. In medii acide ele nu numai că nu se dezvoltă dar sînt distruse foarte repede. Sînt distruse în scurt timp de sucul gastric și dispar repede din urina cu reacție acidă. Acizii biliari le omoară de asemenea repede. Diversele substanțe antiseptice ca sublimatul, hidratul de sodiu, alcoolul, eterul, cloroformul, acetona, le omoară. Mor în 30 de ore la pH=5,0 și în 4 zile la pH=8,4. Nu rezistă decît puțin timp în soluții hiper sau hipotonice.

Sînt sensibile față de antibiotice și în primul rînd față de penicilină, atît in vitro, cît și in vivo. Doza activă, in vitro este de 0,2—0,4 U.I. pe ml. Streptomicina, aureomicina și teramicina sînt de asemenea active. Doze litice, in vitro, sînt de 2—5 gama de streptomicină și 1 gama de aureomicină pe 1 ml.

Sulfamidele au o activitate leptospirocidică redusă.

Serul imun produce liza specifică a leptospirelor: în procesul de liză nu intervine alexina, ci anticorpii singuri provoacă transformarea filamentelor în granule și apoi liza lor.

Ecologie. Leptospirele saprofite se găsesc în apă, iar cele patogene își au sediul obișnuit în organismul uman și mai ales în cel animal. S-a afirmat de către unii cercetători, că leptospirele patogene ar putea exista în unele ape, dar aceste afirmații nu par a corespunde realității, ținînd seama, pe de o parte, de rezultatele experiențelor întreprinse, în vederea verificării lor, iar, pe de altă parte, de particulara sensibilitate a leptospirelor patogene față de diverși factori fizici sau chimici. De asemenea, ipoteza după care leptospirele saprofite s-ar putea transforma în leptospire patogene (Zuelzer (1921), Uhlenhuth și Grossmann (1926) etc.) nu a fost confirmată. În consecință, leptospirele patogene se găsesc în organismele infectate, de unde se elimină, un timp mai scurt sau mai lung, în mediul extern; aici leptospirele se distrug mai repede sau mai încet, după cum mediul în care ele sînt eliminate este mai puțin sau mai mult favorabil conservării lor. Calitatea solului pe care cad decide deci de durata persistenței lor. Safarov (1955), de exemplu, constată că în solurile cu mulți carbonați leptospirele dispar repede din apa acestor soluri, dar se mențin un timp mai îndelungat în ape mai sărace în carbonați.

Structura antigenică. Pentru cercetarea structurii antigenice a leptospirelor se folosesc seruri monospecifice preparate pe iepure, animal care nu produce, de regulă, aglutinine nespecifice. Wiesmann (1952), în scopul obținerii serurilor aglutinante, aplică următorul procedeu: fiecare iepure este injectat intravenos de șase ori cu cîte 1 ml de cultură de leptospire (vii sau inactivate prin formol) bine dezvoltată; injecțiile se fac de două ori pe săptămînă și imunizarea durează 3 săptămîni; 1 săptămînă după ultima inoculare animalul este sîngerat și serul obținut este folosit pentru reacții de seroaglutinare-liză. Serul preparat cu fiecare tulpină este pus în contact cu toate tulpinile, determinîndu-se astfel titrul aglutinant al serului pentru fiecare tulpină în parte. În anumite cazuri se recurge și la metoda adsorbției aglutininelor. Cercetările făcute de numeroși cercetători, după acest protocol, au dovedit că diversele specii de leptospire nu sînt din punct de vedere antigenic total distincte: o specie are antigeni proprii, dar și antigeni comuni cu alte specii și, în consecință, într-un ser preparat cu o tulpină vor apare aglutinine active pentru tulpinile speciei respective, dar și aglutinine active pentru alte tulpini. Aglutininele active pentru tulpinile speciei folosite la prepararea serului se numesc simplu aglutinine, iar cele active pentru alte specii se numesc coaglutinine. Coaglutininele sînt la rîndul lor de două feluri: specifice și nespecifice. Se numesc specifice cînd apar constant în serul tuturor speciilor de animale la care se injectează tulpina respectivă și cînd corespund deci unui an-

Tabelul 67

Proprietățile antigenice ale unor tulpini de leptospire

	Serul imun preparat cu tulpina	Proba de aglutinare cu tulpine de letospire														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		Grippo-typhosa (Mijava)	Bovis palestinensis	Hebdomadis	Sejröe (Mörschwil)	Saxkoebing	Australis (A)	Pomona (Mezzano)	Bovis New-York B.	Mitis (Johnson)	Autumnalis	Salinem	Ballum	Canicola (Utrecht)	I. h. (Șobolan Leipzig)	Bataviae
1	Grippotyphosa (Mijava)	8 000	8 000						200							
2	Bovis palestinensis	8 000	16 000								2 000					
3	Hebdomadis			16000	1 000	16 000										
4	Sejröe (Mörschwil)			200	8 000	4 000										
5	Saxkoebing			400	2 000	64 000										
6	Australis (A) ..						16 000									
7	Pomona (Mezzano)							8 000	8 000							
8	Bovis New-York B.	1 000						8 000	16 000						8 000	
9	Mitis (Johnson) ..									4 000						
10	Autumnalis										16 000					
11	Salinem											4 000	1 600	400	800	
12	Ballum											400	8 000	1 000		
13	Canicola (Utrecht)												8 000	12 800	2 000	
14	I.h. (Șobolan Leipzig)								200						4 000	
15	Bataviae															16 000

tigen permanent prezent și activ în corpul celulei microbiene și sînt nespecifice cînd apar la unele specii animale și nu apar la altele. *Leptospira icterohaemorrhagiae*, de exemplu, are antigeni comuni cu *L. canicola*, față de care apar constant cu coaglutinine specifice. Un ser preparat cu o tulpină de *L. icterohaemorrhagiae* va aglutina tulpina omoloagă la un titru mare — 1/20 000—1/30 000, iar tulpina de *L. canicola* la un titru mai mic — 1/1 000 sau 1/2 000, de exemplu. În cazul cînd serul va fi preparat cu o tulpină de *L. canicola*, el va aglutina *L. canicola* la un titru mai mare și *L. icterohaemorrhagiae* la un litru mai mic. Aceste înrudiri antigenice între diversele specii de leptospire și capacitatea lor de a produce aglutinine și coaglutinine se pot vedea în tabelul 67, pe care îl dăm după Wiesmann (1952).

Recurgînd la metoda adsorbției, se pot obține însă seruri monovalente. Astfel adsorbind un ser antiicterohaemorrhagiae cu o tulpină de *L. canicola* obținem un ser care nu va mai aglutina *L. canicola*. Procedînd în acest fel cu alte tulpini heterogene se vor putea adsorbi dintr-un ser toți anticorpii heterologi, serul devenind monovalent, adică activ numai pentru tulpinile speciei *L. icterohaemorrhagiae*.

Borg Petersen (1938), citat de Austoni, a constatat mai departe, că chiar în cadrul unei specii există tulpini antigenic distincte. Astfel, tulpina de *L. icterohaemorrhagiae* Wijnberg inoculată la animale, produce anticorpi activi, la titruri egale, față de tulpina Wijnberg, ca și față de tulpina *L. icterohaemorrhagiae*, Kantorowicz. Acest ser însă nu este epuizat de anticorpii săi prin tulpina Kantorowicz. Din contra, un ser Kantorowicz, activ față de cele două tulpini de *L. icterohaemorrhagiae* este epuizat de toți anticorpii săi prin tulpina Wijnberg. Rezultă de aici că tulpina Wijnberg are o structură mai complexă (structura pe care autorul o reprezintă prin literele A, B) decît tulpina Kantorowicz (care are o structură mai simplă, reprezentată printr-un singur antigen, și anume antigenul A). În tabelul 68 și 69 se vede mai clar acest lucru.

Tabelul 68

Tulpina	Titrul de aglutinare-liză a serului anti-Wijnberg (titru final)	Titrul de aglutinare-liză a serului anti-Wijnberg adsorbit cu tulpina Kantorowicz
Wijnberg	1/30 000	1/30 000
Kantorowicz	1/3 000	0

Tabelul 69

Tulpina	Titrul de aglutinare-liză a serului anti-Kantorowicz (titru final)	Titrul de aglutinare-liză a serului anti-Kantorowicz după adsorbție cu tulpina Wijnberg
Kantorowicz	1/30 000	0
Wijnberg	1/30 000	0

Acest fel de tulpini constituie variante sau biotipuri ale speciei. Ele pot fi complete (A. B.) sau incomplete (A.).

Babudieri (1947) studiind structura antigenică a leptospirelor de apă a pus în evidență prezența unor antigeni incompleți, diferiți de cei cunoscuți sub numele de haptene, în sensul că ei produc anticorpi in vivo, dar nu pot fi puși în evidență in vitro prin reacțiile serologice cunoscute. Există astfel tulpini care sînt aglutinate de serul preparat cu alte tulpini, dar serul lor propriu nu aglutinează tulpinile respective. Aceasta se vede și în tabelul 70 (după Babudieri).

Tabelul 70

Tulpina	Serul		
	anti AR_1	anti AM_3	anti Waz
A R_1	+	+	—
A M_3	+	+	—
Waz	+	+	+

Aceste date arată cît este de complexă problema structurii antigenice a leptospirelor și acest fapt face dificilă clasificarea leptospirelor pe baze serologice. Unii cercetători au ajuns însă pe această cale la rezultate demne de semnalat. Astfel, Wiesmann a cercetat 15 specii pe care le-a grupat, pe baze serologice, în patru grupe, și anume:

1. Grupa *Grippotyphosa* cu speciile:
    - *L. grippotyphosa*
    - *L. bovis palestiniensis*
2. Grupa *Hebdomadis* cu speciile:
    - *L. hebdomadis*
    - *L. sejröe*
    - *L. saxkoebing*
3. Grupa *Pomona* cu speciile:
    - *L. pomona*
    - *L. bovis New-York*
4. Grupa *Canicola-icterohaemorrhagiae* cu speciile:
    - *L. canicola*
    - *L. salineum*
    - *L. balum*

Problema clasificării serologice a leptospirelor, problemă care prezintă o deosebită importanță practică și teoretică, nu se poate rezolva decît prin examinarea tuturor tulpinilor de leptospire izolate în lume.

Carlinfanti (1941) a găsit că toate leptospirele conțin un complex lipoidic care poate constitui un bun antigen pentru reacția de fixare a complementului. El dă reacții specifice, fiind un lipoid caracteristic leptospirelor și neavînd nimic comun cu lipoizii prezenți în organismele animale. Serul bolnavilor de leptospiroză dă reacții pozitive cu acest antigen, dar nu dă, de exemplu, reacții pozitive cu antigenul lipoidic extras din cordul de bou și care este folosit pentru reacția Wassermann. Reacția cu un asemenea antigen ar permite să se descopere o infecție produsă de o leptospiră necunoscută sau care nu există în colecția unui laborator de diagnostic.

INFECȚIA LEPTOSPIRICA

Incercările de a pune în evidență în culturile de leptospire sau în celula leptospirică un produs toxic au fost, pînă în prezent, negative. Se pare deci că acțiunea patogenă a acestor germeni se datorește virulenței.

Infecţia experimentală

Cobaiul, dintre animalele de laborator, este cel mai sensibil şi el este folosit, constant, pentru probele biologice de diagnostic. Animalele tinere, cîntărind 200—300 g, sînt mai sensibile ca acele adulte şi trebuie preferate pentru cercetări de laborator şi experimentale. Diversele specii de leptospire nu sînt egal de patogene pentru cobai: unele sînt foarte patogene, producînd o infecţie clinică, adeseori mortală *(L. icterohaemorrhagiae, L. autumnalis, L. canicola),* altele sînt mai puţin patogene, producînd infecţii subclinice nemortale. Astfel se comportă speciile *L. pomona, L. grippotyphosa, L. bovis* etc., (Wynohradnyk şi colaboratorii, 1956). Materialul patologic, în vederea reproducerii infecţiei sau în scop de diagnostic, se inoculează intraperitoneal, subcutan sau intracutan după natura lui şi după cum bănuim sau nu existenţa unei infecţii asociate. Calea intraperitoneală este de preferat. Depunerea germenilor pe mucoasa conjunctivală poate reproduce de asemenea infecţia. Zarubina (1956) reuşeşte să infecteze cobaii şi să izoleze de la ei tulpini de leptospire din ape contaminate, cufundînd picioarele posterioare ale animalului, în prealabil scarificate pe faţa planetară, în apa contaminată.

Inocularea unei leptospire patogene la cobai provoacă o boală clinică. Primele simptome apar după 3—5 zile şi constau din febră (2—3°C peste temperatura normală care la cobai variază între 38 şi 39°C), anorexie, zbîrlirea părului, eventual icter. Temperatura se menţine peste normal 2—3 zile şi apoi scade sub normal (35,36°C). Urina este icterică şi conţine albumină, eventual numeroase globule roşii. Germenii, în faza clinică a bolii, sînt prezenţi în sînge şi organe, de unde pot fi izolaţi prin însămînţări pe medii potrivite, şi se elimină constant prin urină. În cazul inoculării intraperitoneale, leptospirele pătrund repede în sînge şi pot fi descoperite, prin însămînţarea sîngelui din cord, chiar după cîteva ore de la infecţie.

Boala poate sfîrşi cu moartea, care survine, de obicei, 7—10 zile după inocularea culturii, dar se poate întîmpla ca animalul să moară mult mai tîrziu, după 30—40 zile. Unele animale se vindecă, în serul lor sanguin apar însă anticorpii specifici.

La autopsia animalelor moarte de leptospiroză se observă, în primul rînd, culoarea icterică a mucoaselor, a ţesutului conjunctiv subcutan, a musculaturii şi a organelor interne. Cordul este hemoragic. Pulmonul este icteric, putînd prezenta puncte hemoragice pe suprafaţă. Ficatul este mărit şi poate prezenta o distrofie grasă şi chiar focare necrotice. Vezica biliară este plină de bilă, destinsă.

Rinichii sînt congestionaţi. Glandele suprarenale sînt constant mărite de volum şi congestionate.

Ţesutul nervos este congestionat.

Şoarecele, după unii cercetători, poate fi infectat, dar, în general, nu este folosit pentru cercetări experimentale. Unele tulpini de leptospire sînt însă patogene pentru şoarece, în special pentru cei tineri. Astfel, tulpina izolată de Olejnik şi Shneyorson (1950) în Israel şi care produce o leptospiroză gravă la om (icter, hematurie şi manifestări meningiale) cu un procent de mortalitate de 2%, inoculată intraperitoneal la șoareci albi în vîrstă de 3 săptămîni produce după 4 zile o septicemie urmată de eliminarea masivă a leptospirelor prin urină. Antigenic, această tulpină se apropie de *L. grippotyphosa* și de *L. bovis palestinensis*, de care se deosebește însă tocmai prin patogenitatea sa pentru șoarece.

Iepurele tînăr (350—400 g) este receptiv, făcînd uneori, cu anumite tulpini, chiar o formă icterică, febrilă a bolii. Temperatura apare după 2 zile de la infecție și se menține 1—2 zile la 40—40,3°C. Moartea survine, după 6—9 zile și mai rar după 16—27 de zile de la infecție. La autopsie, se constată un icter generalizat, hemoragii în musculatura striată și în pulmon, rinichii moi, ficatul distrofic de culoare roz-pal sau gălbuie, splina normală. Animalele care mor după 16—27 de zile prezintă o stare cașectică avansată (Liubașenko, 1955).

Inocularea germenului sub duramater reproduce o formă meningială a bolii asemănătoare cu acea care se dezvoltă în condiții similare, la cobai.

Popîndăii, în special cei tineri, sînt, după Zarubina (1956), receptivi față de speciile anicterice de leptospire, care produc însă la această specie și icter. Prin inocularea animalului suspect la popîndăi se poate izola leptospira și animalul poate fi folosit în scop de diagnostic.

Hamsterul este receptiv, poate mai receptiv decît cobaiul (Brunner, 1948).

Animalele domestice, sînt receptive și boala a putut fi reprodusă la multe dintre ele. Liubașenko și colaboratorii (1955) au reușit să infecteze, de exemplu, mînji cu tulpini izolate de la cai, boi, vulpi albastre și porci. Simptomele, în urma inoculării culturilor, apar după 2—4 zile și ele constau inițial din febră (pînă la 40,5°) și stare gravă de abatere, însoțită de totală inapetență. In zilele următoare se instalează icterul; peristaltismul intestinal se accentuează și materiile fecale devin diareice. Examenul hematologic pune în evidență în primele zile de boală, o hiperglobulie și o hemoglobinemie crescută (pînă la 94%), în timp ce după cîteva zile de boală numărul globulelor roșii scade cu 2—5 milioane în raport cu cifra normală, iar concentrația hemoglobinei se reduce pînă la 40—50%. Numărul leucocitelor crește 20 000—28 000 pe 1 ml; viteza de sedimentare crește: la fel și bilirubina (51,2 mg după 5—10 zile de boală).

Moartea survine după 45—442 de zile, cînd animalele sînt într-o stare gravă de cașexie. La autopsie se găsesc infiltrații sero-hemoragice în țesutul conjunctiv subcutan din diverse regiuni ale corpului, hipertrofia ganglionilor limfatici, lichid în cavitățile seroase, congestii și distrofii ale organelor interne (ficat, splină, rinichi). Mucoasele și seroasele sînt icterice. Hemoragii punctiforme și liniare se găsesc pe endocard. In rinichi sînt prezente numeroase leptospire.

Infecția naturală

In condiții naturale, infecțiile leptospirice, numite leptospiroze (*Leptospirosis*), au fost găsite la om și diverse specii animale în toate părțile lumii.

Infecția la om

Etiologie. Leptospiroza omului poate fi socotită ca o boală profesională; este produsă cel mai frecvent de *L. icterohaemorrhagiae* și de *L. canicola,* dar și celelalte specii de leptospire ca *L. pomona, L. grippotyphosa, L. sejröe, L. bovis* etc. îl pot infecta. Primele două specii, și mai ales *L. icterohaemorrhagiae* produc însă infecții mai grave (forme frecvent icterice) ca cele din urmă (forme frecvent anicterice, benigne și numai excepțional icterice).

Arie geografică. Leptospirozele umane sînt răspîndite și au fost identificate în toate țările lumii. In R.P.R. primele cazuri au fost semnalate de Goia și Moga, în 1943, la Sibiu, apoi în același an, de Popovici și colaboratorii la Cluj. În 1946, Goia și colaboratorii semnalează alte cazuri tot la Sibiu, Marinescu Băloiu (1946) identifică boala în Oltenia (Mehedinți), iar Cornelson și colaboratorii o găsesc în Moldova, în 1948. Cercetările întreprinse, după 1950, de Combiescu și colaboratorii, la București, Topciu și colaboratorii la Timișoara au adus numeroase date privind extinderea leptospirelor umane și animale în R.P.R.

Izvoarele de infecție pentru om sînt reprezentate prin apele infectate și prin animalele purtătoare și eliminatoare de germeni. Importanța apei ca factor de infecție, reiese din numeroasele observații clinice și date epidemiologice care arată că boala apare frecvent la oamenii care lucrează în terenuri umede, săpătorii de canale de exemplu, mlăștinoase (Tarassoff, 1931) în special în orezării; de asemenea, boala a apărut adeseori în urma scăldatului (Combiescu și col. 1955, Topciu și col., 1955). Dintre animale, șobolanii — mai ales specia *Rattus norvegicus* — porcii și cîinii constituie cel mai frecvent sursa de infecție pentru om. Numeroase cercetări au arătat că șobolanii sînt purtători și eliminatori de leptospire în proporții uneori impresionante; astfel, după cele mai multe date, 30—40% din șobolanii capturați în diferite centre europene conțin leptospire în rinichi, pe care le elimină masiv prin urină. Topciu și colaboratorii (1955—1956), studiind izvoarele infecției leptospirotice în Banat (R.P.R.), au găsit frecvent aglutinine la animale domestice (cîinii au dat reacții pozitive în proporție de 46—76%) și rozătoare sălbatice, iar din urina celor 71 de șobolani capturați și

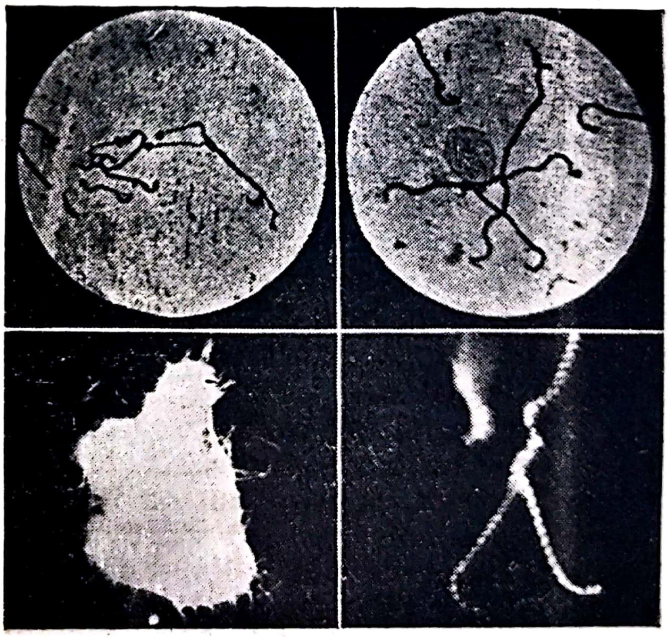


Fig. 144 — Leptospira icterohaemorrhagiae (după Martin și Petit, din Austoni)

Diferite aspecte morfologice

examinaţi au izolat şase tulpini (8,4%), din care patru erau patogene pentru cobai.

Liubaşenko (1955) a examinat, între anii 1939 şi 1954, 2 756 de rozătoare, reuşind să găsească leptospire la 114 şi să izoleze tulpini de leptospire de la 63 dintre ele. Rezultatul acestor examene este rezumat în tabelul 71.

Tabelul 71

Frecvenţa leptospirelor la diverse specii de rozătoare

Specia de rozător	Numărul rozătoarelor examinate	Numărul rozătoarelor la care s-au găsit leptospire	Numărul tulpinilor de leptospire izolate
Şobolan cenuşiu	1 798	72	34
Şobolan de apă	78	3	3
Arvicola oeconomus	490	24	16
Microtus	157	4	3
Şoarece de pădure	164	8	5
Şoarece de cîmp	69	3	2

Cîinele, ca izvor de infecţie, a fost identificat adeseori. În R.P.R., Iagnov şi Buzi (1952) au descris, de exemplu, un caz mortal de infecţie leptospirotică la un îngrijitor de cîini; infecţia, aşa cum au arătat Combiescu şi colaboratorii (1952), a fost produsă de *L. canicola*. Cercetările lui Combiescu şi colaboratorii (1954) au arătat că 25% din cîinii din Bucureşti conţin aglutinine pentru *L. canicola* şi coaglutinine pentru *L. icterohaemorrhagiae*. Porcii, de asemenea, pot fi adesea originea infecţiilor umane şi aşa-numita boală a porcarilor este, după cum a dovedit Gsell, o leptospiroză. În ţara noastră, ca şi în alte ţări, s-au semnalat asemenea cazuri şi, ele erau produse de *L. pomona* (Topciu şi col. 1955, Constantinescu şi col. 1955 etc.).

Simptomele infecţiei apar după o perioadă de incubaţie de 5—10 zile şi iniţial, constau din febră, frisoane, cefalee violentă, dureri lombare, articulare şi musculare, congestia mucoasei conjuctivale, albuminurie, azotemie şi adeseori anemie. Aceste simptome durează 3—5 zile şi sînt urmate, în a doua fază a bolii, de hipertrofia mai mult sau mai puţin manifestă a ficatului, de icter, oligurie gravă, azotemie pronunţată. Această fază durează 8—10 zile. Urmează faza de convalescenţă în care febra dispare, dar icterul persistă; se instalează o diureză însemnată — 2—3 l de urină pe zi — şi azotemia revine la normal. În faza de convalescenţă apare un nou val termic, ceea ce pare a fi o caracteristică a infecţei leptospirotice.

Boala evoluează în 3 săptămîni. Convalescenţa este lungă. Procentul de mortalitate variază în limite largi în raport cu tipul infectant de leptospiră. Astfel, în infecţiile produse de *L. icterohaemorrhagiae*, procentul de mortalitate variază de la 4 la 30%. Infecţiile produse de leptospire, în general anicterice, ca *L. pomona*, *L. hebdomadis*, *L. bataviae*, *L. sejröe* şi chiar *L. canicola*, sînt de obicei, benigne. Cazurile mortale, în infecţiile cu aceste leptospire, sînt foarte rare şi ele survin atunci cînd boala evoluează pe organisme tarate — oamenii în vîrstă, cu leziuni hepatice sau renale.

Infecția la cîine

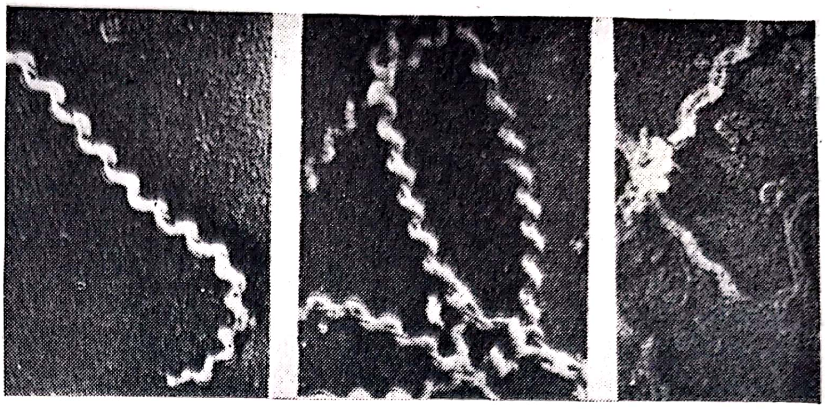


Fig. 145 — Leptospira canicola; × 18 000 (după Babudieri, din Austoni)

Imagine electronică. Fixare în acid osmic, umbrire cu aur. Se observă axistilul

Istoric, etiologie și arie geografică. Infecțiile leptospirotice ale cîinelui au fost semnalate de numeroși cercetători ca Uhlenhuth și Formme (1918), Lukes (1923) etc. sub diverse nume: icter infecțios, tifos canin. Se pare că Klarenbeek și Scüffner (1933) au fost cei care au adus probele definitive din care a rezultat că așa numita boală de Stuttgart este o leptospiroză. După această dată, infecții leptospirotice canine au fost identificate în majoritatea țărilor europene, precum și în țări extraeuropene, Algeria (Donatien și col., 1951) și în special în cele din sudul Asiei. În R.P.R., primele cercetări privind leptospiroza canină sînt făcute de Combiescu și colaboratorii (1951 și 1952) și din ele reiese, după cum s-a amintit că în medie 25% din cîinii din București conțin aglutinine față de *L. canicola* și coaglutinine față de alte leptospire, *L. icterohaemorrhagiae, L. grippotyphosa, L. pomona.* Autorii au izolat de la cîinii cu reacții pozitive o tulpină de *L. canicola* foarte patogenă pentru cobai și au identificat și cazuri de infecție naturală. O anchetă serologică făcută de Surdan și colaboratorii (1955), printre cîinii prezentați la consultație la clinica de boli contagioase a Facultății de medicină veterinară din București, a dovedit de asemenea existența unui procent însemnat de animale cu reacții de aglutinare-liză pozitive față de diversele specii de leptospire; s-au examinat cu această ocazie 175 de seruri, din care 18 au dat reacții pozitive, și

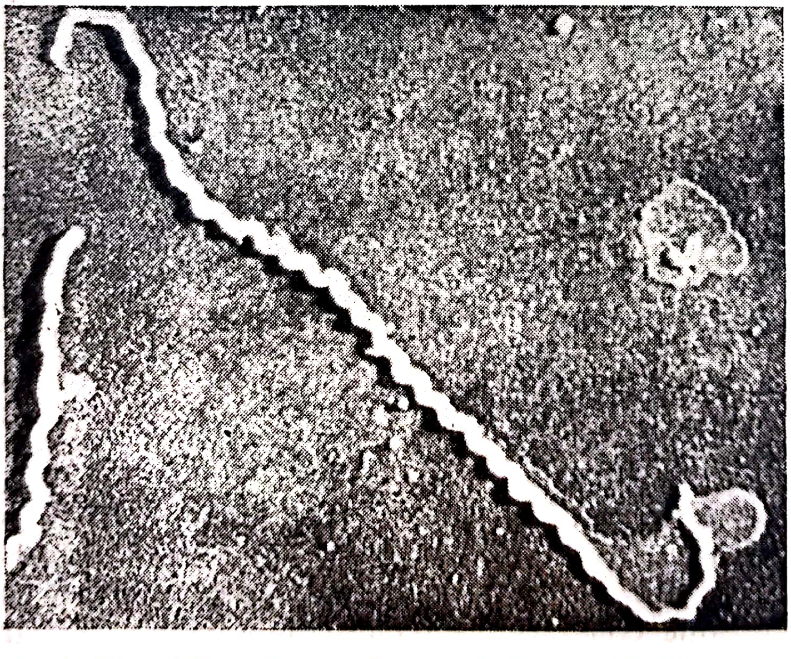


Fig. 146 — Leptospira canicola; × 12 000 (după Wiesmann, din Austoni)

Imagine electronică. Fixare în acid osmic, umbrit cu aur.

anume 15 pentru *L. canicola*, 2 pentru *L. icterohaemorrhagiae* și 1 pentru *L. grippotyphosa*. Feluțiu la Institutul de patologie și igienă animală, a examinat 516 seruri provenind de la cîinii de crescătorie și a găsit că 44% au prezentat reacții pozitive, și anume 37% pentru *L. canicola*, iar restul pentru *L. icterohaemorrhagiae* și *L. grippotyphosa*. Reiese din aceste date că leptospiroza pare a fi foarte răspîndită printre cîinii din R.P.R.

Simptomele infecției leptospirotice la cîine variază în raport cu tulpina infectantă. Astfel *L. icterohaemorrhagiae* produce o boală icterică, iar *L. canicola* o boală tifică, de regulă anicterică.

După datele furnizate de Klarenbeek, infecțiile produse de *L. icterohaemorrhagiae* sînt icterigene într-un procent de 82%, iar cele produse de *L. canicola* într-un procent de 3%. Prezența icterului este o indicație cu privire la specia infectantă, în sensul că formele icterice, cu mare probabilitate, sînt produse de *L. icterohaemorrhagiae*, iar cele anicterice de *L. canicola*. Precizarea însă nu se poate face decît de laborator, prin reacția de aglutinare-liză, deoarece există forme anicterice produse de *L. icterohaemorrhagiae* și forme icterice provocate de *L. canicola*. *L. icterohaemorrhagiae* este transmisă cîinilor, deobicei de șobolan iar *L. canicola* de cîinii bolnavi sau purtători. Animalele trecute prin boală rămîn purtătoare și elimină leptospirele prin urină. Boala este mai frecventă la masculi ca la femele, ceea ce pare a fi în legătură cu faptul că masculii, în timpul căldurilor, beau urina femelelor.

Forma icterică de leptospiroză este socotită ca o entitate morbidă aparte — *Icterus infectiosus* — și debutează prin febră, tulburări gastrice, vomismente. Această stare durează 6—7 zile și este urmată de icter; în această fază, mucoasele și pielea din regiunile depilate devin galbene, putînd prezenta și hemoragii; urina este galbenă sau brună și conține albumină, pigmenți biliari, hematii și celule epiteliale. Boala sfîrșește cu moartea. La autopsie se observă culoarea icterică a organelor interne și hemoragii pe seroase.

Forma anicterică sau *tifosul canin* — *Typhus canum* — are un debut insidios. Animalul, începe prin a pierde pofta de mîncare, bea însă apă multă, este apatic. Această stare se agravează în zilele următoare. Pe mucoasa bucală apar, în această fază, ulcere care sînt invadate de diverse bacterii de putrefacție, ceea ce face ca gura animalului să exale un miros respingător. Tulburările renale sînt grave. La început animalul urinează mult, apoi urina scade cantitativ și conține albumină. Azotemia crește în proporții impresionante, pînă la cifre care depășesc de 10 ori sau mai mult cifra normală. Wirth a găsit la animale bolnave, valori de 884 mg% față de 20—50 mg% cît este concentrația normală a ureii în sînge. Simptomele renale sînt însoțite de tulburări gastrointestinale — enterită, melenă. Boala durează 8—10 zile. Mortalitatea variază de la 50 la 80%, fiind mai ridicată la cățeii tineri ca la adulți. Moartea de regulă este datorită uremiei. La autopsie se observă ca leziune constantă și patognomonică inflamația, uneori hemoragică, a mucoaselor stomacale și intestinale — a intestinului subțire ca și a intestinului gros. Splina mărită, ganglionii limfatici edemațiați, rinichii cu degenerescență parenchimatosă.

Cîinii care rezistă infecției rămîn purtători de germeni, cu leziuni renale. Borg Petersen a arătat că 80% din cîinii cu nefrite conțin anticorpi antileptospirotici în ser.

Infecția la porci

Istoric, etiologie și arie geografică. Leptospiroza porcină a fost descrisă întîi în Italia de Penso (1933), apoi în U.R.S.S. de Nikolski și colaboratorii (1935), și este produsă fie de *L. pomona*, fie *de L. mitis* și mai rar de alte specii. Boala a fost semnalată în diverse țări din Europa ca U.R.S.S., Suedia, Franța, Elveția, Italia, precum și în țări extraeuropene, ca Israel. În R.P.R., boala bănuită de mai mult timp a fost depistată serologic și bacteriologic (izolare de tulpini) întîi de Combiescu și colaboratorii și apoi și de alții cercetători ca Jivoin (1952), Leluțiu (1953), Volintir și Munteanu (1954), Surdan și colaboratorii (1955), Tudoriu și colaboratorii (1956), Bercea (1956). De la porci s-au izolat tulpini aparținînd diverselor specii : *L. icterohaemorrhagiae* (Combiescu și col., 1952, *L. pomona* și *L. mitis* (Combiescu și col., Kliper Leluțiu și Bercea), *L. pomona-praga* (Tudoriu și col., 1956).

Epizootologie. Infecția se caracterizează printr-o mare difuzibilitate ; în unele crescătorii, procentul de animale serologic pozitive poate atinge cifra de 88,4% (Surdan și col., 1955) sau 96,26% (Kliper și col., 1955). Boala se transmite constant de la porci la oameni și infecția la porcine se decelează, de obicei, după ce ea a fost diagnosticată la om.

Simptome. Infecția evoluează, de cele mai multe ori, asimptomatic. În cazurile simptomatice tulburările sînt necaracteristice și constau dintr-o ușoară stare febrilă, pierderea poftei de mîncare, eventual diaree. Tulburări nervoase — stări de excitație cu aspect epileptiform, tulburări în mers, mișcări dezordonate ale membrelor etc. —, au fost semnalate de unii clinicieni. De asemenea, la unele animale se constată apariția icterului (Tudoriu). Animalele se remit și procentul de mortalitate este redus. În general, procentul de mortalitate este mai ridicat la animalele tinere ca la cele adulte. Tudoriu și colaboratorii (1956) au studiat un focar enzootic la animale scoase la pășune în timpul iernii și la care boala a evoluat clinic, în special la scroafele gestante, care în cursul perioadei febrile avortau și apoi mureau. Toate animalele au prezentat stări icterice grave și tulburări gastrointestinale — constipație urmată de diaree adeseori sanguinolentă. Procentul de mortalitate a fost ridicat. Forme diareice în leptospiroza porcină au fost semnalate și de Volintir.

La autopsia animalelor moarte de leptospiroză se găsesc puncte hemoragice în diverse organe, pe meninge și creier și se observă, în unele cazuri, culoarea icterică a organelor.

Infecția la bovine

Infecția leptospirică — *Leptospirosis bovum* — a fost semnalată, pentru prima oară, în U.R.S.S. de Nikolski și colaboratorii (1935) și apoi in alte țări din Europa și din alte continente — Algeria (Donatien și col. 1951), Israel, Australia, U.S.A. (Jungherr, 1944, Baker și Little, 1948 etc.). În R.P.R., primele cercetări au fost făcute la Institutul de patologie și igienă animală de un colectiv condus de Popovici. Cu această ocazie, Leluțiu (1953) face un studiu serologic și izolează tulpina infectantă care aparținea speciei *L. pomona* (tulpina Perșinari), iar Surdan și col. (1955) studiază caracterele clinice și epizootologice ale bolii.

Etiologie. Boala este produsă, în diverse regiuni ale globului, de diferite specii de leptospire. În U.R.S.S., tulpina, izolată și studiată de Terskich și Semskov (1937, 1941) și denumită *L. icterohaemoglobinuriae* pare a fi identică cu *L. grippotyphosa*, precum și cu *L. bovis* izolată de Bernkopf și Bernkopf și Oltitski în Israel. În U.S.A., Goschenour și colaboratorii (1950), Erdheim (1953), în R.P.R. Leluțiu (1953) au izolat de la bovine *L. pomona*, iar în Australia, pe lîngă *L. pomona* și *L. mitis*. Hoeden (1955) afirmă că în Palestina infecția la bovine poate fi produsă și de *L. canicola* care provine de la cîini și șacali. În Anglia au fost întîlnite infecții produse de *L. icterohaemorrhagiae* (Field și Sellers, 1950).

Epizootologie. Infecția pare a fi de natură hidrică și se întinde în sezonul cald la animale care pasc pe terenuri umede și mlăștinoase. Tineretul este mai receptiv ca animalele adulte. În enzootia cercetată de Surdan și colaboratorii (1955) morbiditatea la vacile adulte a fost de 6%, iar la viței sub 7 luni de 21,4%. La vițeii înțărcați, procentul de morbiditate a fost mai mare (75,6%) ca la vițeii sugari pentru că ultimii nu mergeau la pășune și nu veneau în contact cu izvorul de infecție reprezentat foarte probabil, de apele de pe pășune.

Simptome și leziuni. Leptospiroza la bovine îmbracă forme variate, recunoscîndu-se patru forme clinice principale și anume: frustă, acută, subacută și cronică. În formele fruste, simptomele sînt abia perceptibile și constau din o ușoară scădere a apetitului și, deci la tineret o ușoară rămînere în urmă a dezvoltării. În formele acute, maligne, care se întîlnesc, de regulă, la animale tinere, inițial se observă o stare gravă de abatere, însoțită de febră peste 40°C și de pierderea poftei de mîncare. Uneori apare diareea, urmată în scurt timp, de constipație apoi de hemoglobinurie și icter; temperatura, în această fază, scade sub normal. Leucograma indică la animalele bolnave o ușoară limfocitoză, neutropenie, eozinopenie sau chiar aneozinofilie. Formele grave se caracterizează prin agranulocitoză și aneozinofilie. Boala evoluează în 1—3 zile și sfîrșește cu moartea. Mortalitatea la tineret este foarte ridicată în unele focare enzootice (86,6% în enzootia studiată de Surdan și col). La autopsie se remarcă în primul rînd, culoarea icterică a țesuturilor și organelor, precum și existența edemelor gelatinoase în diverse regiuni: laringiană, mediastenală, renală. Ficatul este mărit, prezentînd uneori focare necrotice. Vezica biliară este plină cu o bilă vîscoasă. Rinichii sînt degenerați și prezintă în zona corticală numeroase focare roșii-bune sau albe-gri măsurînd 1—2 mm. Vezica biliară conține o urină tulbure roșiatică. Splina poate fi de dimensiuni normale sau ușor mărită. Ganglionii limfatici sînt edemațiați și cu zone hemoragice. Edemul plumonar poate fi prezent. Miocardul este uneori degenerat. Mucoasa tubului digestiv este inflamată, uneori cu zone necrotice, în special pe mucoasa cheagului.

În formele subacute și cronice, care se întîlnesc mai frecvent la animalele adulte, simptomele sînt mai puțin manifeste. Temperatura poate fi normală sau deasupra normalului, 40—41°C. Icterul și hemoglobinuria sînt de regulă prezente. Patognomonică este atonia gastrointestinală și constipația. Boala durează 5—10 zile și sfîrșește cu vindecarea.

În formele acute și în cele subacute se observă adeseori necroze ale mucoaselor și pielii. Asemenea leziuni se pot observa pe gingii, limbă, mamelă, ureche, în regiunile perianală, perivulvară etc.

Infecția la cabaline

Istoric, etiologie și arie geografică. Leptospiroza a fost descrisă la cal întîi de Nikolski și colaboratorii și apoi de alți cercetători, dar de-abia în 1946, Liubașenko și Novikova izolează o tulpină de leptospire de la un cal bolnav, dovedind astfel natura leptospirotică a bolii (Liubașenko, 1955). După aceste prime date, boala a mai fost găsită și în alte țări ca S.U.A., Anglia, Italia, Cehoslovacia (unde este descrisă sub numele de boala de Jdear), și în special în Elveția. Heusser (1952) și Gseil (1954) în Elveția, Rossi-Kolochine-Erber (1952—1953) în Franța, Yamamoto (1955) în Japonia, Anghelov și Kujumgiev (1954) în Bulgaria, Gluhovschi și colaboratorii (1956) în Romînia etc., admit că oftalmia periodică este de origine leptospirotică, iar Neni, în Italia, consideră anemia infecțioasă a calului tot ca o leptospiroză. Afirmațiile făcute de Neni, după cercetările întreprinse în această direcție cu Niculescu și Lelutiu (1956) nu par a corespunde realității. Într-adevăr caii infectați experimental cu material infecțios provenind din anemia infecțioasă a cailor și care au prezentat simptome tipice de anemie au dat constant reacții serologice negative, cu diverse tipuri de leptospire. În ceea ce privește oftalmia periodică, Heusser (1952) afirmă că a reușit să reproducă boala la cabaline, cu culturi de *Leptospira pomona,* administrate fie intraocular, fie extraocular — subcutan sau pe cale bucală. Simptomele oculare apar însă tîrziu — 3—7 luni — după inocularea leptospirelor. Titrul aglutininelor în infecțiile experimentale era mai mare în umorile oculare (1/10 000) cai în serul sanguin (1/2 000). Oftalmia periodică, după autor, ar reprezenta consecințele tardive ale unei infecții leptospirotice. La concluzii asemănătoare ajung Witmar și colaboratorii (1953), Kraft și Brunner (1953), Gsell (1954) și alți cercetători, (Gsell 1954). Cercetările făcute în Ungaria de Kemenes și colaboratorii (1952) precum și cele comunicate de Lelutiu (1953) în Romînia nu confirmă aceste ipoteze. Caii cu leziuni de oftalmie periodică nu dau într-adevăr, totdeauna reacții serologice pozitive cu diversele tulpini de leptospire. În R.P.R., leptospiroza la cabaline a fost identificată clinic și serologic în 1955 (Stamatin și col. și Gluhovski și col.). Agentul etiologic în R.P.R. ca și în ale țări (S.U.A. Roberts și col., 1952, Elveția, Kraft și Brunner, 1953 etc.) este *L. pomona.*

Epizootologie și simptomatologie. Infecția are un caracter sezonier (este mai frecventă vara) și apare de obicei în localitățile situate pe terenuri joase, cu multă apă de suprafață, unde în urma ploilor se formează mlaștini, băltoace. Germenii se pare că pătrund în organism prin leziuni cutanate sau bucale; în special, prin schimbarea dinților de lapte se crează porți favorabile pătrunderii leptospirelor în organism. Porcii, după Kraft și Brunner (1953), boii după Liubașenko și colaboratorii (1955) pot constitui un izvor de infecție pentru cabaline și boala poate să apară din această cauză, concomitent la porcii și cabalinele sau la bovinele și cabalinele unei gospodării.

Leptospiroza la cal evoluează acut, sau cronic. În formele clinice, animalele prezintă hipertermie, 39—40,6°C, anorexie, stare de prostrație, congestia mucoasei conjunctivale, epifora și fotofobie, eroziuni și necroze pe buze și gingii, nesiguranță în mers, slăbire accentuată, erupții cutanate urticariforme, dureri musculare, icter generalizat. Pulsul și respirația sînt accelerate. Peristalitismul intestinal este redus și materiile fecale sînt uscate și cu mult mucus. Boala durează 6—7 zile sau mai mult. Covalescența este lungă. Cazuri mortale nu s-au înregistrat în țara noastră. În schimb, în alte părți (U.R.S.S., vezi Liubașenko și col., 1955) există și asemenea cazuri. La autopsie se constată o stare de cașexie avansată, edeme în diverse regiuni ale corpului, culoarea icterică a mucoaselor, seroaselor și organelor. Histologic, în diverse organe — rinichi, ficat, splină — se pot pune în evidență procese proliferative privind țesutul reticulo-endotelial. În rinichi pot fi prezente leptospire, dar fragmentate și greu de pus în evidență. În formele cronice asimptomatice se constată doar apariția anticorpilor în sînge, uneori la un titru destul de ridicat.

Infecția la ovine

Infecția la oi a fost semnalată, după Austoni, pentru prima oară în U.R.S.S., de Kuzmin, și apoi de alți cercetători în țări extraeuropene, cum este Kenya. În Israel, Van der Hoeden (1953) și în Tunisia Gayot și Cannepin (1954), au găsit-o la capre. Nu a fost semnalată în R.P.R.

Specia microbiană care produce formele cele mai grave de boală este *L. icterohaemorrhagiae*, care în condiții experimentale reproduce infecția la oaie și capră (Melanidi și col., 1953).

Clinic se disting trei forme, și anume:

1) o formă supraacută, icterică, însoțită de hematurie și hemoglobinurie, cu evoluție rapidă și cu sfîrșit fatal, în cîteva ore și în majoritatea cazurilor; 2) o formă acută, cu manifestări mai accentuate din partea sistemului nervos, cu stare subicterică și 3) o formă cronică, benignă în care boala își trădează existența, de cele mai multe ori, doar prin apariția anticorpilor.

La autopsia animalelor moarte se constată culoarea icterică a țesuturilor și organelor, hemoragii în țesutul conjuctiv subcutan și pe mucoasa intestinală, degenerarea și hipertrofia ficatului etc.

Infecția la vulpile argintii

La vulpile argintii a fost descrisă de asemenea o leptospiroză produsă de *L. DW. W*, izolată de Nikolaiev (1939) și diferită antigenic de *L. canicola*. Evoluția bolii se aseamănă cu cea de la cîine.

Infecția la șoarecii albi

Kraminskaia și Eksin (1956) au identificat o infecție spontană la șoarecii albi de crescătorie. Boala este produsă de o specie nouă numită de autori *L. muris* și evoluează clinic sau subclinic. In formele clinice, modificările în fiziologia animală sînt imprecise, dar animalul moare.

Leptospiroza șoarecilor albi este mult răspîndită în Extremul Orient.

Diagnosticul leptospirozelor

La om și animale, diagnosticul se face de obicei prin examenul serologic și bacteriologic, deoarece examenul clinic nu permite diferențierea, cu precizie, a infecției leptospirotice de alte stări morbide. De altfel, pînă la introducerea metodelor de diagnostic de laborator multe din cazurile de leptospiroză umană au fost considerate ca stări gripale, iar cele de la animale au fost confundate cu alte stări morbide. Interpretarea rezultatelor date de reacțiile serologice — microaglutinare-liză — trebuie făcută cu prudență, deoarece anticorpii leptospirotici persistă mult timp în organismele trecute prin boală (serul unui fost bolnav de leptospiroză și care suferă de altă boală poate da deci o reacție pozitivă). In formele evolutive, urmărirea la diverse intervale de timp, a titrului de anticorpi, dă indicații mai precise cu privire la natura bolii, adică se diagnostică o infecție leptospirotică atunci cînd titrul anticorpilor crește paralel cu evoluția unei stări de boală și pe măsură ce ne îndepărtăm de debutul bolii. Punerea în evidență a leptospirelor prin examen direct, prin inocularea la animal sau prin însămînțări în medii potrivite constituie totuși proba cea mai sigură de diagonstic.

In laboratoare în scop de diagnostic se recurge, cel mai frecvent, la următoarele reacții și examene:

1. reacția de microaglutinare-liză;

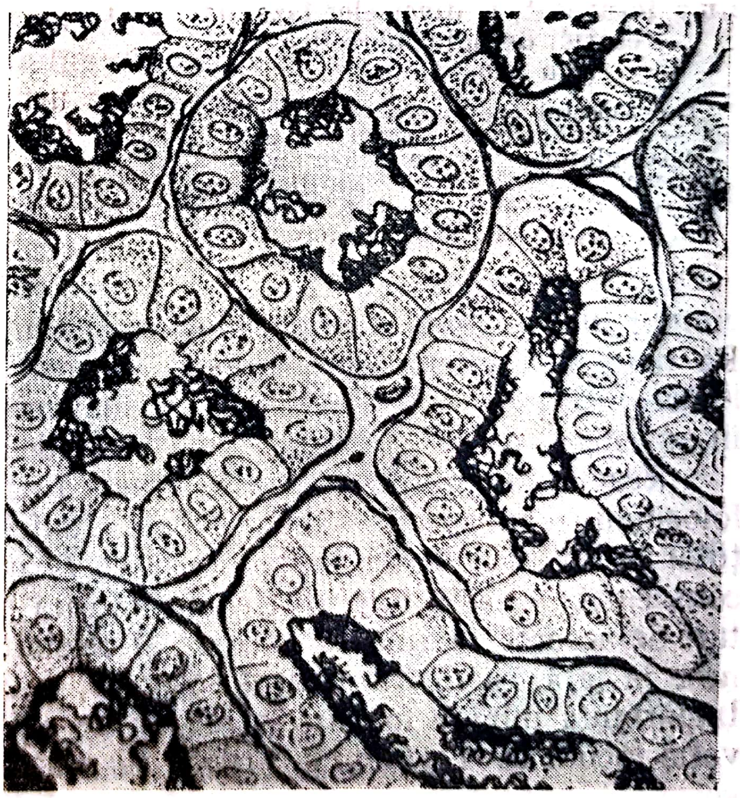


Fig. 147 — Secțiune prin rinichi de șoarece purtător de leptospire (din Austoni)
Impregnarea argentică

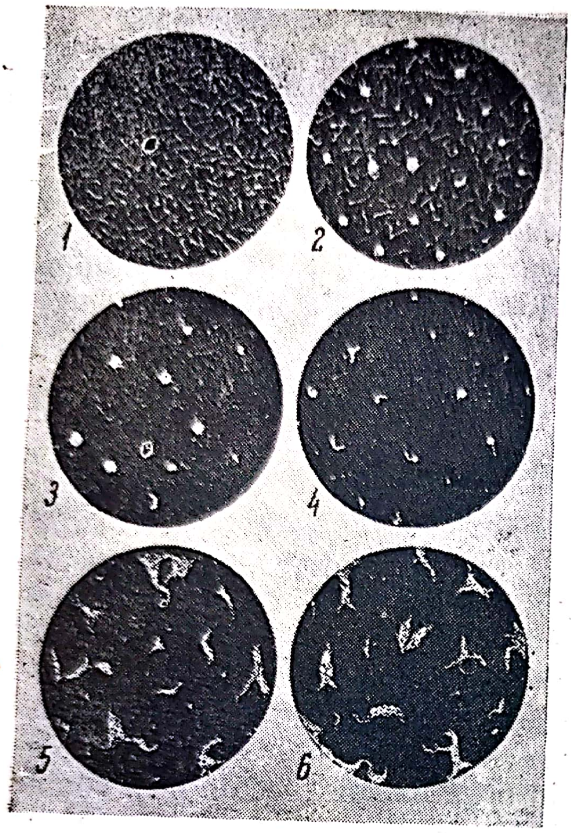


Fig. 148 — Aspectul microscopic, în cîmp întunecat, a diverselor faze ale reacţiei de aglutinare-liză (din Austoni)

1 — aspectul unei culturi normale; 2 — sub influenţa anticorpilor se produce aglutinarea — construirea unor ghemuri; unele leptospire sînt lizate; 3 — liză puternică: 4 — liză totală; 5 şi 6 — aglutinare cu antigen formolat

2. reacţia de fixare a complementului;

3. examenul bacteriologic direct şi prin culturi al diverselor produse biologice;

4. inocularea la cobai, pe cale intraperitoneală, a materialului patologic, în vederea izolării tulpinii infectante.

Reacţia de aglutinare. Se practică obişnuit procedeul rapid de aglutinare pe lamă. În acest scop, o picătură din serul de examinat, diluat 1/50 cu apă fiziologică, se amestecă pe o lamă curată cu o picătură de un volum sensibil egal dintr-o cultură de leptospire bine dezvoltată, care să conţină cel puţin 30 de leptospire pe un cîmp miscroscopic. Amestecul rămîne 10—15 minute la temperatura camerei şi apoi se examinează la miscroscop, pe fond întunecat. Reacţia pozitivă se traduce prin aglutinare şi liză. Liza se produce numai la concentraţii mari de anticorpi (diluaţi 1/20, 1/100 ser) şi constă din granularea şi dispariţia leptospirelor din cîmpul microscopic. Fenomenul se poate uşor urmări la microscop; se observă întîi imobilizarea germenilor, apoi granularea şi topirea lor. Aglutinarea se observă bine la diluţii mai mari de anticorpi (1/1 000 sau mai mult ser) şi se manifestă prin constituirea în cîmpul microscopic a unor gheme (păianjeni) formate din leptospire. Pe marginea ghemului se găsesc uneori încă filamente, fragmente din leptospirele prinse în ghem, care se mai mişcă. Aceste gheme se păstrează în amestecul de ser şi cultură pînă la 24 de ore.

Reacţia de aglutinare-liză se practică cu mai multe tipuri de leptospire, folosindu-se în special tulpini locale. Astfel, în R.P.R., majoritatea infecţiilor la om şi animale sînt produse de *L. pomona-396* sau „Perşinari"; în consecinţă, această tulpină trebuie folosită la orice examen serologic. Alături de această tulpină se folosesc şi celelalte tulpini (tipuri) care se întîlnesc în ţară, ca *L. icterohaemorrhagiae, L. canicola, L. bovis, L. mitis* etc. Importanţa tulpinii folosite în reacţia de aglutinare-liză reiese şi din observaţia făcută de Leluţiu (1953) cu ocazia cercetării unui focar de leptospiroză bovină. Serurile recoltate de la aceste bovine nu aglutinau decît tulpina pomona, şi atît timp cît această tulpină nu a fost folosită s-au obţinut constant rezultate negative.

Atunci cînd una sau mai multe din tulpinile examinate au fost aglutinate de serul folosit în diluția de 1/50 (ceea ce reprezintă, ca diluție finală, în picătură, 1/100) se fac alte diluții de ser și anume 1/100, 1/200, 1/400 etc., pentru a se stabili titrul aglutinant al serului. Cu cît acest titru este mai mare, cu atît posibilitatea unei infecții leptospirotice actuale este mai probabilă. Sînt seruri care aglutinează unele tulpini de leptospire pînă la diluția de 1/100 000 și chiar mai mult. Astfel, la un cal care suferea de o leptospiroză evolutivă, Stamatin și colaboratorii (1955) au găsit către sfîrșitul bolii, un titru de 1/409 000.

Rezultatele seroaglutinării sînt cu atît mai corecte, cu cît elementele care intră în reacție sînt mai bine controlate. Astfel, serul suspect trebuie să fie limpede, să nu conțină bacterii sau impurități, tulpinile folosite să fie aglutinabile, iar culturile să fie pure, proaspete (5—10 zile) și bine dezvoltate (aproximativ 30—100 de leptospire într-un cîmp microscopic). Se folosesc culturi vii, dar sînt autori care recomandă culturi formolate 0,2—0,5%.

Reacția de aglutinare-liză se poate face și în tuburi, amestecînd în tuburi de reacție 0,1 ml de cultură cu 0,1 ml de ser diluat. Amestecul se agită bine, și se examinează microscopic imediat, după 2 ore de păstrare la 37°C, sau la temperatura camerei chiar la 52°C.

Titrul aglutinant considerat pozitiv, variază după autor. În general trebuie considerat pozitiv un titru aglutinant de 1/200—1/400 și mai mult. În cazul unei infecții evolutive, examenul serologic se repetă, la același bolnav, la diverse intervale, pentru a urmări dinamica anticorpilor. Creșterea titrului constituie o indicație prețioasă de diagnostic.

Reacția de aglutinare poate fi citită și cu ochii liberi sau cu o lupă, atunci cînd se folosește ca antigen o suspensie densă de leptospire — germenii sînt concentrați prin centrifugare — eventual colorați cu o soluție slabă de violet de gențiană. În cazul folosirii unui asemenea antigen se utilizează atît metoda rapidă de aglutinare-liză pe lamă, cît și metoda lentă, în tuburi. Dar, sînt necesare în acest procedeu cantități mari de cultură, ceea ce constituie un serios dezavantaj.

Reacția de fixare a complementului se folosește în cazuri speciale și nu pentru examene curente, în serie. Ca antigen se utilizează o cultură bine dezvoltată de leptospire concentrată de zece ori printr-o centrifugare de 2 ore la o viteză de 5 000—10 000 de turații pe 1 minut și păstrată 10 zile la rece. Antigenul se conservă pînă la 6 luni, ceea ce constituie un important avantaj. Reacția se execută după titrarea precisă a valorii fixatorii a antigenului, și întrebuințînd metoda de fixare după Bengston.

Valoarea reacției în diagnosticul infecției și tipurilor de leptospire este însemnată (Bessemans și Nelis, 1928, Gaehtgens, 1933).

Examenul bacteriologic direct se practică asupra diverselor produse patologice de la bolnav sau cadavru. Se cercetează urina, sîngele lichid cefalorahidian după metoda obișnuită, pe fond întunecat. Pentru îmbogățire, lichidele pot fi centrifugate. Examenele post-mortem trebuie executate cît mai curînd după moarte, deoarece leptospirele se lizează în scurt timp în cadavre. În vederea izolării germenului materialul patologic se însămînțează pe medii potrivite, care se incubează la 28—30 și se examinează periodic pînă la 3 luni de zile, deoarece unele tulpini se dezvoltă foarte încet.

Proba biologică constă din inocularea materialului patologic (sînge, urină, triturat de organe, mai ales rinichi) la cobai tineri, sub 200 g. Inocularea se face de regulă pe cale intraperitoneală. La cobaii inoculaţi se urmăreşte zilnic temperatura, şi la prima ascensiune termică se recoltează sînge din cord şi se face o hemocultură. Culturile sînt urmărite timp de cel puţin 3 luni. Valoarea diagnostică a probei este însemnată.

Identificarea unei tulpini de leptospire izolată dintr-un focar, se face în primul rînd prin mijloace serologice. Laboratoarele cu asemenea sarcini trebuie să dispună de seruri de tip preparate cu tulpini de colecţie.

Prepararea serurilor antileptospirotice pentru tipizarea tulpinilor. Serul specific de tip se prepară pe iepuri, care se inoculează de 6—8 ori, intravenos, cu culturi vii sau formolate. Inoculările se repetă la 3—4 zile. Doza inoculată de fiecare dată este de 1—2 ml dintr-o cultură bogată în leptospire. Sîngerarea se face la 7—8 zile după ultima inoculare. În acelaşi fel se prepară, eventual şi seruri aglutinante pentru tulpinile izolate şi a căror apartenenţă de specie este necunoscută.

Procedee de tipizare. În vederea determinării speciei căreia aparţine o tulpină izolată dintr-un focar, se fac reacţii de microaglutinare-liză cu seruri preparate pe iepuri cu tulpini de colecţie. Se poate ca o tulpină să aglutineze cu mai multe seruri şi atunci pentru a determina specia căreia aparţine se recurge la metoda adsorbţiei aglutininelor a lui Castellani, care se execută în felul următor : 0,05 ml de ser convenabil diluat (se recomandă diluţia de 1/3 000) se amestecă cu o suspensie concentrată de leptospire în volum de 0,45 ml. Amestecul este păstrat 4 ore la temperatura camerei, apoi este centrifugat. Lichidul supernatant conţine ser diluat 1/30000). El este folosit în reacţii de aglutinare cu diverse tulpini de leptospire, după o tehnică similară cu aceea folosită pentru identificaera speciilor din genul *Salmonella.*

Tot în vederea identificării unei tulpini se poate folosi şi proba de bacterioliză, tip Pfeiffer-Isaev (inocularea intraperitoneală a culturilor de leptospire la cobai serumizaţi şi urmărirea in vivo, în exudatul peritoneal, a procesului de liză). Proba imunizării încrucişate poate servi de asemenea pentru identificare.

Profilaxie. *Profilaxia nespecifică* la om şi animale a leptospirozelor se inspiră din cunoştinţele pe care le avem asupra condiţiilor de răspîndire a acestor infecţii, condiţii care au fost arătate anterior. Măsurile de profilaxie nespecifică urmăresc combaterea eliminatorilor animali prin distrugerea lor (şobolani), izolarea sau tratarea lor (animale domestice) cu antibiotice, şi distrugerea leptospirelor din mediul ambiant, prin uscarea terenurilor sau prin folosirea antisepticelor (în special acidificarea mediului).

Profilaxia specifică se aplică pe o scară din ce în ce mai mare în combaterea leptospirozelor. Astfel, culturile inactivate prin chinozol (Liubaşenko, 1949), de exemplu, dau rezultate pozitive în prevenirea leptospirozelor la unele specii de animale domestice, mai ales la cîini şi viţei. Rezultate bune se obţin şi cu culturi formolate (Donatien şi Goyot, 1951), care se prepară după tehnica următoare : mediul ales pentru prepararea vaccinului se repartizează în cantităţi de 30 ml în baloane Erlenmeyer de 250 ml. Fiecare balon este însămînţat cu cîte 1 ml dintr-o cultură bine dezvoltată de leptospire. După o incubaţie de 5—7 zile la 28—30°C, culturile sînt formolate 2% şi apoi centrifugate 2 ore la 14 000 de ture. Depozitul de leptospire este luat cu ser fiziologic într-un volum de zece ori mai mic decît cel iniţial. Amestecul se agită bine şi se păstrează la rece pînă la întrebuinţare, după cum se poate şi liofiliza. In vederea imunizării active, animalele sînt inoculate de două sau trei ori, la interval de 7—9 zile. Dozele de vaccin injectate variază cu specia animalului. Bîrzoi şi colaboratorii (1955) inoculează cîinii de două sau trei ori, respectiv cu 3,5 şi 5 ml de vaccin chinozolat 1/1 000. Animalele vaccinate reacţionează prin producţie de aglutinine. Lipsa aglutininelor din sînge este o dovadă că animalele nu s-au imunizat. Aglutininele ating un titru maxim după 10—15 zile de la vaccinare.

Tratament. Antibioticele ca penicilina, aureomicina dau rezultate pozitive în tratamentul infecţiei la animale şi om. S-au folosit şi seruri imune însă antibioticele sînt preferate deoarece ele au o mare polivalenţă şi sînt mai bine suportate de organismul animal şi uman. Nu s-a semnalat existenţa unor tulpini rezistente la antibiotice. Antibioticele pot fi folosite şi pentru sterilizarea purtătorilor. La cîini, de exemplu, se asigură vindecarea septicemiei sau sterilizarea infecţiilor cronice, administrînd timp de 5 zile, zilnic, cîte 40 mg de aureomicină pe kilocorp în 24 de ore; doza zilnică se administrează per os, fracţionat din 8 în 8 ore. Streptomicina se foloseşte în doza de 700 mg în prima zi şi de 500 mg în zilele următoare. Tratamentul durează 3—5 zile. Bîrzoi şi colaboratorii (1955) obţin rezultate favorabile tratînd cîinii bolnavi cu penicilină (peste 1 milion U. I.) şi ser antileptospirotic (30 ml). Injecţia cu ser se poate repeta după 2 zile. Tratamentul asociat, ser imun şi penicilină a dat, după autori, rezultate mai bune ca penicilina singură.

BIBLIOTECA CE RALĂ
REGIONA

BIBLIOGRAFIE

ANGHELOV ST. şi KUJUMGIEV I. — Leptospiroza animalelor domestice în Bulgaria în legătură cu leptospiroza umană. *Iz. Mikrobiol. Institut.* Sofia, 1954, 5, p. 27.

AUSTONI M. — Le leptospirosi, Padova, 1953.

BABUDIERI B. — Cercetări de microscopie electronică III. Studiul genului Leptospira. *Rendiconti Ist. Sup. Sanita,* 1948, 11, p. 1046

BABUDIERI B. — Leptospirele acvicole şi constituţia lor antigenică. *Rendiconti Ist. Sup. Sanita,* 1947, 10, p. 1.

BAKER J. A. — Leptospiroza bovină. *J. Exp. Med.,* 1948, 88, p. 295.

BERNKOPF H. — Cercetări experimentale asupra leptospirozei la om şi bovine în Palestina. *Refuah. Vet.* (Palestina), 1946, 3, p. 49.

BERNKOPF H. şi OLTISKY L. — Leptospiroza bovină. Raport din Palestina. *Board. Sci. Inst. Res.,* 1948, 20.

BERNKOPF H. şi col. — Studii asupra leptospirozei bovine şi umane. *J. Inf. Dis.,* 1947, 80, p. 53; 1948, 83, p. 232.

BESSEMANS A. şi NELIS P. — Asupra fixării complementului în spirochetoza icterohemoragică. *C. R. Soc. Biol.,* 1928, 98, p. 1234.

BIRZOI D., STOENESCU D. şi DRAGOI I. — Date experimentale cu privire la tratamentul şi profilaxia leptospirozei. *Bul. informativ Zoo-Veterinar.* 1955. nr. 3—4, p. 20.

BORG-PETERSON — Cercetări asupra leptospirozelor în Danemarca. *Acta, Conv. Tert. de Trop. Morbis.*, 1938, 1, p. 369.

BRUNNER K. T. — Infecţia hamsterului cu L. canicola. *The California Vet.*, 1948, iulie-august.

COMBIESCU D., STAMATESCU S., STURZA N., BOTEZ V., SURDAN C. şi WEGENER M. — Infecţia la om cu Leptospira pomona. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 1951, 9, t. I, nr. 6, p. 546.

COMBIESCU D., POPOVICI I., STAMATESCU S., BOTEZ V., STURDZA N., SURDAN C. şi WEGENER M. — Cercetări serologice la cîinii din Bucureşti pentru stabilirea incidenţei leptospirelor. *Comunicările Academiei R.P.R.*, iunie 1955, seria ştinţe medicale, 1951, t. I, p. 861.

COMBIESCU D., STAMATESCU S., STURDZA N., BOTEZ V., SURDAN C. şi WEGENER M. — Leptospiroză, forma meningiană produsă de L. pomona. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 1951, 30 mai. nr. 7, p. 723.

COMBIESCU D., STURZA N., BOTEZ V., ZARNEA GH., POPOVICI I., SURDAN C. şi DIMA G. — Studiul serologic şi experimental al unei tulpini de leptospiră izolată de la porc. *Studii şi cercetări de inframicrobiologie, microbiologie şi parazitologie*, 1952, t. III, p. 122.

COMBINESCU D., BOTEZ V., STURDZA N., DRĂGOI I. — Cazuri de leptospiroză clinic aparentă într-un grup de cîini. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 13, X, 1952.

COMBIESCU D., BOTEZ V., STURDZA N., şi MUNŢIU N. — Leptospiroza cîinilor (studiu experimental). *Comunicările Academiei R.P.R.*, 13, X. 1952.

COMBIESCU D., ANGHELESCU I. şi BOTEZ V. — Un caz de infecţie de laborator la om cu Leptospira canicola. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 13.X.1952.

COMBIESCU D., STURDZA N. şi TULPAN G. — Studiul unor tulpini de leptospire izolate de la şobolani. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 13.X.1952.

COMBIESCU D., STURDZA N., BOTEZ V., ZARNEA GH., DIMA G. şi IONESCU H. — Cercetări asupra leptospirozelor în R.P.R. (vezi Leptospiroza porcilor, studiu experimental). *Comunicările Academiei R.P.R.*, 26, III. 1953.

COMBIESCU D., STURDZA N., SEFER M., RADU I. şi VOLINTIR V. — Răspîndirea leptospirozelor în R.P.R. I. Ancheta serologică a cazurilor în cursul anului 1953. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 5 V. 1954.

COMBIESCU D., GHEORGHIU G., STURDZA N. şi NICULESCU I. — Diagnostic retrospectiv al infecţiei cu L. grippo-typhosa. *Comunicările Academiei R.P.R.*, 5.V.1954.

COMBIESCU D., STURDZA N., RUSS-TUPA ALEXANDRA, PANAITESCU G., SEFER M. şi colectivul clinicii de boli contagioase — Şobolanii albi, rezervor de L. ictero-haemorrhagiae. *Comunicările Academiei R.P.R.*, iunie 1953.

COMBIESCU D., STURDZA N., RUSS-TUPA ALEXANDRA, SEFER M. şi colectivul clinicii de boli contagioase — Cazuri de leptospiroză la om cu un nou tip de leptospire. *Comunicările Academiei R.P.R.*, iunie, 1953.

COMBIESCU D., STURDZA N., RADU I. şi SEFER M. — Asupra unor cazuri de leptospiroză anicterică ivite la copii în urma scăldatului. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino"*, decembrie 1955, p. 158.

CONSTANTINESCU N. şi col. — Leptospiroză umană de origine porcină. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino"*, decembrie 1955, p. 165.

CORNELSON şi col. — Cîteva date asupra leptospirozelor în Moldova. *Comunicările Societăţii ştiinţelor medicale, Iaşi*, 1950.

CARLINFANTI E. — Asupra anticorpului lipoidic specific al leptospirelor din serul uman şi importanţa sa practică în diagnosticul leptospirozelor. *Z. f. Immunitätsf*, 1941, 99, p. 460.

CLAYTON B. şi DERRICK E. — Prezenţa leptospirozei de tip benign (febra de 7 zile) în Queensland. *Med. J. Austr.*, 1937, 24, p. 647.

CZEKALOWSKI W. J. şi EAVES J. — Structura leptospirozelor în imaginile date de microscopul electronic. *J. Path. Bact.*, 1955, 69, p. 129.

DONATIEN A., şi col. — Leptospiroza bovinelor în Algeria. *Arch. Inst. Pasteur*, Algérie, 1951, 29, p. 18.

DONATIEN A. şi col. — Leptospiroza cîinilor în Algeria. *Arch. Inst. Pasteur*, Algérie, 1951, 29, p. 20.

DONATIEN A. şi GAYOT G. — Încercări de imunizare a cîinelui contra leptospirozei cu L. icterohaemorrhagiae. *Arch. Inst. Pasteur, Algérie*, 1951, 29, p. 280.

FENNESTAD K. L. şi BORG-PETERSEN — Leptospiroza bovină şi avortul. *Nord. Vet. Med.*, 1956, 8, p. 815.

FIELD A. J. şi SELLERS K. C. — Infecţii cu L. i. h. la viţel. *Vet. Rec.*, 1950, 62, p. 311.

GAEHTGENS W. — Diagnosticul serologic în boala lui Weil cu ajutorul reacţiei de fixare a complementului şi a reacţiei de floculare. *Z. f. Immunitätsf.*, 1933, 79, p. 428.

GAYOT G. — Leptospiroza bovină. *Off. Int. Epizooties*, 1954, 41, p. 749.

GAYOT G. şi CANNEPIN — Leptospiroza caprelor în Tunisia. *Rév. Méd. Vét.*, 1954, 130, p. 364.

GLUHOVSCHI N. şi col. — Identificarea leptospirozei la cabaline. *Probleme veterinare*, 1956, nr. 1, p. 10.

GOIA I. şi MOGA A. — Consideraţii asupra unui caz de spirochetoză I. H., *Romînia medicală*, 1943, octombrie, p. 249.

GOIA I., MOGA A. şi MEŢIANU — Consideraţii asupra unei mici epidemii de icter Weil, observată la Sibiu. *Ardealul medical*, 1946, nr. 9—10, p. 436.

GOLDSTEIN I., DULCE M., SASSU I. şi MUNTEANU A. — Leptospirozele. *Revista ştiinţelor medicale*, 1949, seria a II-a, p. 233.

GOSCHENOUR W. S. şi col. — Tulpinile bovine de leptospire sînt antigenic similare cu L. pomona. *Proc. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1950, 74, p. 199.

GSELL O. — Leptospirosis Pomona, boala porcarilor. *Schweiz. Med. Wschr.*, 1946, p. 237.

GSELL O. — Leptospirozele animalelor domestice: leptospirozele porcilor, cailor, vacilor în Europa centrală. *Bull. Off. Int. Epizooties*, 1951, 36, p. 410.

GSELL O. — Die Leptospirosen. Geneva, 1953.

HALLAUER C. şi KUHN H. — Pasagii numeroase a L. i. h. în embrionul de găină. *Z. f. Hyg.*, 1942, 124, p. 125.

HEUSSER H. — Oftalmia periodică, o leptospiroză? *Schweiz. Arch. Tierheilt.*, 1948, 40, p. 287.

HEUSSER H. — Despre etiologia oftalmiei periodice. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1952, 94, p. 296.

HOEDEN J. — Leptospiroza la capre în Israel. *J. Comp. Path.*, 1953, 63, p. 101.

HOEDEN J. — Epizootologia leptospirozei (L. canicola) la bovine şi alte specii în Israel. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1956, 126, p. 207.

HUBENER H. şi REITER R. — Contribuţii la etiologia bolii lui Weil. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1916, 52, p. 131.

IAGNOV S. şi ŞTEFAN B. — Un caz de leptospiroză icterohaemorrhagiae. *Revista ştiinţelor medicale*, 1952, nr. 1, p. 54.

INADA R. şi IDO Y. — O comunicare de ansamblu asupra descoperirii agentului (o nouă specie de spirochetă) bolii lui Weil. *Tokyo Ijishinshi* 1915.

INADA R. şi col. — Etiologia, modul de infecţie şi tratamentul specific în boala lui Weil. *J. Exp. Med.*, 1916, 23, p. 377.

JIVOIN P. — Leptospiroza la porcinele din două crescătorii din Banat în 1952 şi 1953. Note personale

JUNGHERR E. — Leptospiroza bovină. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1944, 105, p. 276.

KELEN A. — Leptospiroza bovină în Ungaria. *Acta Vet. Hung.*, 1952, 2, p. 289.

KLARENBEEK A. — Prezenţa spirochetei de tipul leptospirei în rinichii cîinilor bolnavi de icter şi febră tifoidă. *Ann. Inst. Pasteur*, 1927, 41, p. 1156.

KLARENBEEK A. — Statistică clinică asupra leptospirozelor canine. *Zbl. f. Bakt.*, 1938, O. 142, p. 80.

KLARENBEEK A. şi SCHÜFFNER — *Ned. Tijdschr., v. Gennesk*, 1933, 3, p. 4271.

KLIPER A., BADER şi PAINA — Cercetări epidemiologice asupra leptospirozei într-o crescătorie şi îngrăşătorie de porci. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino"*, decembrie 1955, p. 188

KRAFT W. şi BRUNNER T. K. — Un caz de leptospiroză pomona cu inflamaţia oculară, la cal. *Schweiz. Arch. Tierhilk.*, 1953, 95, p. 255.

KRAMINSKAIA N. N. şi EKSIN A. V. — Leptospiroza spontană la şoareci albi. *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 1956, nr. 9, p. 63.

LELUŢIU C. — Anchetă serologică asupra răspîndirii leptospirozelor la animale în R.P.R. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1953, 4, p. 238.

LIUBAŞENKO S. A. — Vaccinoprofilaxia, seroprofilaxia şi seroterapia leptospirozei la animale. *Veterinaria*, 1949, nr. 7.

LIUBAŞENKO S. A. — Caracteristica clinico-anatomică a leptospirozei spontane şi experimentale la cai. *Veterinaria*, 1955, nr. 12, p. 14.

LIUBAŞENKO S. A. — Rolul rozătoarelor în epizootologia leptospirozei. *Veterinaria*, 1955, nr. 6, p. 39.

MELANIDI C. şi col. — Spirocheta icterohemoragică experimentală la oaie, capră şi purcei. *Rev. Gén. Méd. Vét.*, 1953, 42, p. 76.

MITOV A. şi col. — Rezultatele cercetărilor făcute asupra leptospirozelor benigne în Bulgaria meridională. *Bul. Inst. Microb. Acad. Bulgară de Ştiinţe*, Sofia, 1952, 3, p. 77.

MORROW G. şi col. — Dezvoltarea leptospirei icterohemoragice pe membrana corioalantoidiană a embrionului de găină. *Science*, 1938, 88, p. 384.

NICOLESCU AL. şi col. — Ancheta serologică privind leptospirozele în focare de anemie infecţioasă şi oftalmie periodică. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală*, 1956, 6, p. 155.

OLEJNIK E. şi SHNEYERSON S. — O nouă tulpină de leptospira în Israel. *Nature* (Londra), 1950, 166, p. 526.

ROSSI B. şi KOLOCHINE ERBER B. — Leptospiroza la animale mari domestice. *Bull. Soc. Sci. Vet.*, Lyon, 1952—53, 54—55, p. 211.

SAFAROV M. K. — Influenţa factorilor mediului exterior asupra apariţiei şi răspîndirii leptospirozei. *Veterinaria,* 1955, nr. 8.

SEMSKOV V. — Etiologia, formele clinice şi epizootologia icterului infecţios la bovine. *Z. Vet. Kde.,* 1941, 7, p. 53.

STAMATIN N., BAIEŞ I., BERCEA I., POPOVICI A., BAIEŞ A. şi LEANCU M. — Consideraţiuni asupra unor cazuri de leptospiroză la cai. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino“,* decembrie 1955, p. 160.

SURDAN C., STOENESCU V., GRIGORE C., LELUŢIU C. şi NICOLESCU AL. — Studiu epizootologic asupra unui focar de leptospiroză bovină. *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1955, nr. 3, p. 55.

SWAIN A. H. R. — Studii cu microscopul electronic asupra morfologiei spirochetelor patogene. *J. Path. Bact.,* 1955, 69, p. 117.

TARASSOFF S. — Trei izbucniri epidemice de febră de apă produse de L. grippotyphosa aquatilis în U.R.S.S. *Bull. Off. Internat. Hyg. Publ.,* Paris, 1928, 27, p. 298.

TARASSOFF S. — Problema leptospirelor în U.R.S.S. *1 Congres. Internat. Microb.,* Paris, 1930.

TARASSOFF S. — Asupra descoperirii agentului infecţios al bolii „Schlamm fieber“ sau *Leptospirosis grippotyphosa aquatilis. Ann. Inst. Pasteur, 1931, 46,* p. 222 şi 635.

TERSKICH — *Z. f. Hyg.,* 1942, 49, p. 107.

TOPCIU VL. şi col. — Studiul leptospirozei infantile în colectivităţile şcolare. *Lucrările seziunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino“,* decembrie, 1955, p. 162.

TOPCIU VL. şi col. — Rezervoarele naturale de virus în leptospiroza din Banat. *Lucrările Sesiunii ştiinţifice a Institutului „Cantacuzino“,* decembrie 1955, p. 164 şi *Arch. Rom. Epidemiol. Microbiol.,* 1956, p. 339 şi 342.

TUDORIU C. şi col. — O enzootie de leptospiroză porcină. *Probleme de epizootologie şi microbiologie,* 1956, nr. IV, p. 32.

UHLENHUTH P. şi FROMME W. — Etiologia aşa-numitei boli a lui Weil, *Berl. Klin. Wschr.,* 1916, 1, p. 269.

VOLINTIR V. şi MUNTEANU N. — Cîteva observaţii asupra unor manifestări clinice şi epizootologice în leptospiroza anicterică la porc. *Probleme zootehnice şi veterinare,* 1954, nr. 10, p. 90.

WEIL A. — Asupra unei boli infecţioase acute particulare cu hipertrofia splinei şi nefrită. *Dtsch. Arch. Klin. Med.,* 1886, 39, p. 209.

WIESMANN E. — Leptospirele privite în special din punct de vedere antigenic. *Erg. Hyg. Bakt. Imunitätsf., und exp. Therapie,* 1952, 27, p. 323.

WOLLAND W. şi BREDE D. — Problema producţiei de hialuronidază la leptospire. *Med. Wschr.,* 1951, 5, p. 698.

WYNOHRADNYK V., LELUŢIU C. şi CARJEVSKI I. — Infecţia experimentală cu leptospire de colecţie. *Anuarul Institutului de patologie şi igienă animală,* 1956, 6, p. 145.

ZARUBINA V. L. — Utilizarea metodelor biologice de cercetare în focarele de leptospiroză. *J. Mikrobiol. Immunol. Epidemiol.,* 1956, nr 9, p. 65.

YAMAMOTO S. — Leptospiroza la animalele domestice. *Bull. Off. Int. Epizooties,* 1951, 36, p. 421.

YAMAMOTO S. — Situaţia recentă a cercetării oftalmiei periodice a calului în Japonia. *Bull. Off. Int. Epizooties,* 1955, 43, p. 425.

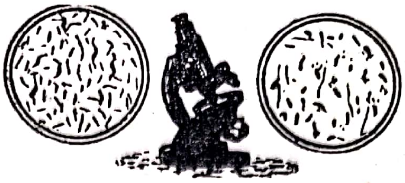


TABLA DE MATERII

Pag.

- Clasificarea bacteriilor . . . 5
- Grupa bacteriilor rotunde . . . 9
  - Subgrupa cocilor Gram negativi și grupați cîte doi . . . 9
    - Genul *Neisseria* Trevisan, 1885 . . . 9
      - *Neisseria gonorrhoeae* Trevisan, 1885 . . . 9
      - *Neisseria intracellularis* Holland, 1920 . . . 11
  - Subgrupa cocilor Gram pozitivi, grupați neregulat . . . 13
    - Genul *Staphylococcus* Rosenbach, 1884 . . . 13
      - *Staphylococcus pyogenes* Andrewes și Gordon, 1907 . . . 13
    - Genul *Sarcina* Goodsir, 1842 . . . 48
      - *Sarcina ventriculi* Goodsir, 1842 . . . 49
    - Genul *Gaffkya* Trevisan, 1885 . . . 49
  - Subgrupa cocilor Gram pozitivi și grupați cîte doi sau în lanțuri . . . 49
    - Genul *Diplococcus* Weichselbaum, 1886 . . . 49
      - *Diplococcus pneumoniae* Weichselbaum, 1886 . . . 49
      - *Diplococcus pluton* Bergey et al, 1925 . . . 55
    - Genul *Streptococcus* Billorth, 1874 . . . 56
      - *Streptococcus pyogenes* Rosenbach, 1882 . . . 56
- Grupa bacteriilor în formă de bastonaș drept . . . 95
  - Subgrupa bacteriilor nesporulate și Gram negative . . . 95
    - Genul *Escherichia* Castellani și Chalmers, 1919 . . . 98
      - *Escherichia coli* (Migula) Castellani și Chalmers, 1919 . . . 98
    - Genul *Aerobacter* Beijerinck, 1900 . . . 110
      - *Aerobacter aerogenes* (Kruse) Beijerinck, 1900 . . . 110
      - *Aerobacter cloacae* (Jorden) Bergey et al. 1923 . . . 110
    - Genul *Klebsiella* Trevisan, 1885 . . . 110
      - *Klebsiella pneumoniae* (Schröter) Trevisan, 1882 . . . 110

- Genul *Proteus* Hauser, 1885 . . . 113
  - *Proteus vulgaris* Hauser, 1885 . . . 113
- Genul *Salmonella* Lignières, 1900 . . . 114
- Genul *Shigella* Castellani și Chalmers, 1930 . . . 165
  - *Shigella dysenteriae* (Shiga) Castellani și Chalmers, 1919 . . . 165
  - *Shigella equirulis* (Blieck și Helsbergen) Edwards, 1913 . . . 168
- Genul *Pasteurella* Trevisan, 1885 . . . 176
  - *Pasteurella animalium* Stamatin et al., 1950 . . . 177
  - *Pasteurella pestis* (Lehmann și Neumann) Holland, 1920 . . . 238
  - *Pasteurella tularensis* (Mc. Coy și Chapin) Bergey et al. 1948 . . . 244
  - *Pasteurella pseudotuberculosis* Topley și Wilson, 1936 . . . 250
  - *Pasteurella romanica* Cîrsteț, 1955 . . . 255
- Genul *Brucella* Meyer și Shaw, 1920 . . . 267
- Genul *Bacterium* Ehrenberg, 1828 . . . 336
  - *Bacterium mallei* Migula, 1895 . . . 336
  - *Bacterium pseudomallei* (Whitmore) nom. nov. . . . 357
  - *Bacterium necrophorum* Lehmann și Neumann, 1927 . . . 359
  - *Bacterium mastitidis* Meisener și Schoop, 1932, Hauduroy, 1937 . . . 368
  - *Bacterium faecalis alcaligenes* Petruschky, 1896 . . . 371
  - *Bacterium prodigiosum* Schroeter, 1872 . . . 372
- Genul *Pseudomonas* Migula, 1900 . . . 374
  - *Pseudomonas pyocyanea* Migula, 1895 . . . 374
  - *Pseudomonas punctata* Zimmermann, 1890 . . . 377
  - *Pseudomonas syncyanea* (Ehrenberg), Migula, 1895 . . . 380
- Genul *Haemophilus* Winslow et al, 1920 . . . 382
  - *Haemophilus suis* Hauduroy et al, 1937 . . . 382
  - *Haemophilus influentae (Lehmann și Neumann) Winslow* et al, 1920 . . . 384
  - *Haemophilus pertusis* Holland, 1920 . . . 386
  - *Haemophilus ducreyi* (Neveu-Lemaire) Bergey et al. 1923 . . . 387
  - *Haemophilus bronchisepticus (Ferry) Topley și Wilson* 1946 . . . 387
  - *Haemophilus gallinarum* Eliot și Lewis, 1931 . . . 388
  - *Haemophilus moniliformis* . . . 388

Subgrupa bacteriilor nesporulate și Gram pozitive . . . 389
- Genul *Erysipelothrix* Rosenbach, 1909 . . . 389
  - *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Kitt) Holland, 1920 . . . 389
  - *Erysipelothrix muriseptica* (Flügge) Rosenbach, 1881 . . . 413

- Genul *Listerella* Pirie, 1927 . . . 414
  - *Listerella monocytogenes* Pirie, 1927 . . . 414
- Genul *Lactobacillus* Beijerinck, 1900 . . . 428
- Genul *Corynebacterium* Lehmann şi Neumann, 1896 . . . 430
  - *Corynebacterium diphteriae* (Klebs-Löffler) Lehmann et Neumann, 1897 . . . 430
  - *Corynebacterium pyogenes* (Glage) Eberson, 1918 . . . 432
  - *Corynebacterium renale* (Migula) Ernst, 1905 . . . 434
  - *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Buchanan) Eberson, 1918 . . . 435
  - *Corynebacterium equi* Magnusson, 1923 . . . 436
  - *Corynebacterium kutscheri* . . . 437
  - *Corynebacterium murisepticum* . . . 437
- Genul *Mycobacterium* Lehmann şi Neumann, 1896 . . . 438
  - *Mycobaterium tuberculosis* (Kock) Lehmann şi Neumann, 1896 . . . 439
  - *Mycobacterium paratuberculosis* (Johne), Bergey, 1930 . . . 553
  - *Mycobacterium leprae* (Armauer-Hansen) Lehmann şi Neumann, 1927 . . . 562
  - *Mycobacterium lepraemurium* Marchoux şi Sorel, 1912 . . . 566
  - *Mycobacterium piscium* Bergey et al, 1923 . . . 567
  - *Mycobacterium phlei* Lehmann şi Neumann, 1899 . . . 568
  - *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Chester, 1901 . . . 568

Subgrupa bacteriilor sporulate şi Gram pozitive . . . 569

- Genul *Bacillus* . . . 569
  - *Bacillus anthracis* Cohn, 1872 . . . 569
  - *Bacillus larvae* White, 1904 . . . 656
- Genul *Clostridium* Prazmowski, 1880 . . . 661
  - *Clostridium tetani* (Flügge) Holland, 1920 . . . 664
  - *Clostridium botulinum* (van Ermengem) Holland, 1920 . . . 696
  - *Clostridium chauvoei* Scott, 1926 . . . 712
  - *Clostridium oedematis maligni* Bergey et al, 1923 . . . 723
  - *Clostridium welchii*, Holland, 1920 . . . 735
  - *Clostridium oedematiens* (Weinberg şi Séguin) Bergey et al, 1923 . . . 774
  - *Clostridium gigas* Prévot, 1938 . . . 784
  - *Clostridium hemolyticus bovis* . . . 784
  - *Clostridium histolyticum* (Weinberg şi Séguin) Bergey et al, 1922 . . . 785
  - *Clostridium sporogenes* (Mecinikov) Bergey et al, 1923 . . . 791

Grupa bacteriilor în formă de virgulă şi Gram negative . . . 795

- Genul *Vibrio* Müller, 1773 . . . 795
  - *Vibrio cholerae* Neisser, 1893 . . . 795

Vibrio metchnikovii Gamaleia, 1888 799
Vibrio foetus Smith şi Taylor, 1919 799

Grupa bacteriilor în formă de filament regulat ondulat 807

Genul *Spirochaeta* Ehrenberg, 1833 808
Spirochaeta anserina Sacharoff, 1891 808

Genul *Treponema* Schaudinn, 1905 814
Genul *Leptospira* Noguchi, 1917 814

Redactor de carte: Kövari Ioan
Tehnoredactor: Andreica Virgil
Corector: Mohilo Maria

Dat în lucru 20.V.957. Bun de tipar 22.XI.957. Tiraj 2500+150 ex. Hîrtie velină de 80 gr/m.p. Format 16/70×100. Coli editoriale 72,590. Coli tipar 53,250+16 planșe. Ediția I. Comanda 174. A. 1335/957. Pentru bibliotecile mari indicele de clasificare 576.8. Pentru bibliotecile mici 57. E. 12.817

Tiparul executat sub com. nr. 789 la Combinatul Poligrafic Casa Scînteii „I. V. STALIN“, București — R.P.R.